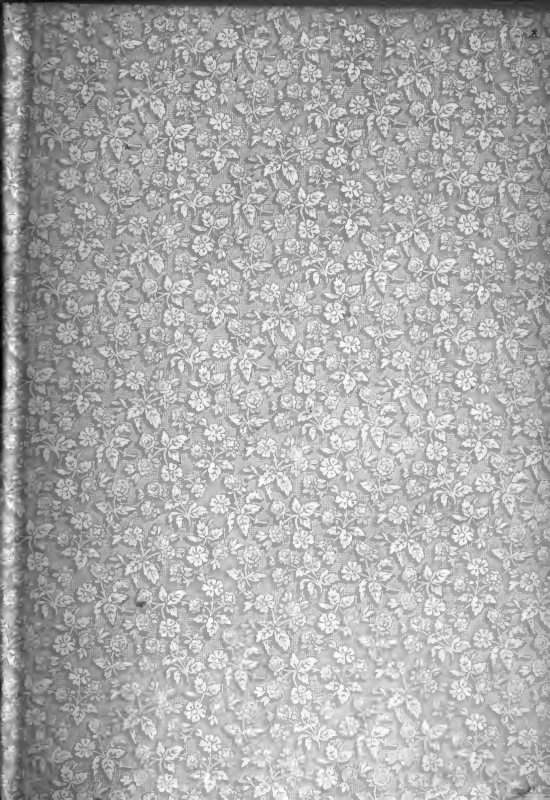
image
not
available

image
not
available


074861350



Archiv

für

Protistenkunde.

Herausgegeben

von

Fritz Schaudinn
Halensee bei Berlin.

Fünfter Band.

Mit 15 Tafeln und 106 Textfiguren.



JENA.
Verlag von Gustav Fischer.
1905.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites Heft.

Drittes Heft.

Evidences of a Sexual-cycle in the Life-history of Amoeba proteus.

By
Gary N. Calkins, Colnmbia University, New York.

(Hierzu Tafel I—III und 1 Textfigur.)

I. Observations.

The material upon which these preliminary observations are based was taken from Van Cortlandt pond, New York City, the usual source of snpply of our microscopic forms. From this source we nsually get abundant protozoa material for class work, and among other forms, it furnishes rich *Amoeba proteus* cultures. Snch cnltures are richest in Amoeba after abont six weeks in the laboratory when large uninucleate forms are so common that several may be seen in the field of the componnd microscope at one time. Such material, when allowed to stand on the shelves throughout the winter, fnrnishes an abundant supply of rotifers, oligochaetes, Plumatella and Pectinatella, and other interesting forms, while protozoa of various genera appear from time to time in considerable numbers. In the spring a fresh supply of material is usnally obtained from the pond. Last year the material was collected and distribnted in the usnal manner in large stender dishes, and after a conple of weeks a fine cnlture of *Amoeba proteus* appeared. They were so large and clear that I made preparations for demonstration purposes and upon studying these was surprised to find that the specimens showed a varying nnmber of nnclei and that many of them were similar to Difflugia or Arcella in having, in addition to the larger nuclei, a considerable amount of distributed chromatin. The preparations

were made and put aside until more time could be devoted to their study, and now that they have been studied, I reproach myself for not giving up everything else that I was engaged with and devoting a few days to these amoebae in the living state. I have no doubt that such attention at that time would have resulted in clearing up this phase of the life history of *Amoeba proteus*. Again and again since then have I tried to get them in the same stage of development, and although I have found the organisms in abundance they were not in the proper phase, and in the subsequent cultures they died out as they usually do in the winter period. While I regret that the complete account cannot be given here, I think it worth the while to publish my observations as far as they go in the hope that the clue will be of use in stimulating a general search for this stage in the life-history of Amoeba and in ascertaining the fate of the products of this activity which I have traced thus far only to a certain point.

While *Amoeba proteus* has an average size of about 300 μ the individuals which were in the stages of nuclear division and nuclear fragmentation were somewhat larger than this, although in the same culture were smaller and typical forms. All were in active movement, and pseudopodia formation was rapid, while food particles were, for the most part, absent. The cytoplasm appeared to be somewhat less dense than in the ordinary forms, although this might have been merely the circumstance that food particles were absent. The ectoplasm was clearly visible in the pseudopodia, and the general appearance, in short, was not different from that of *Amoeba proteus* under ordinary circumstances of scarcity of food.

The different activities which the organisms undergo at this period may be briefly summarized as follows: the single nucleus divides by mitosis, these daughter-nuclei in turn divide in the same way, and so on until the descendants of the first nucleus number sixty or seventy. Before this number is reached, however, the nuclei begin to disintegrate or break up into chromatin granules, and these become distributed throughout the cytoplasm. One after another of the nuclei break up in this way until there are only one or two of the large "primary" nuclei left, while the cytoplasm is now filled with minute particles of chromatin. Many of these particles, if not all, become minute nuclei, and as such, divide by a form of mitosis which is common to the

flagellated protozoa, that is, to the centronucleus type. Ultimately these metamorphose into definite nuclei of a common type and the entire cell then encysts. One, at least, of the large nuclei remains unused and can be seen in the encysted stage with undiminished size and characteristic form.

a) The primary Nucleus and its Mitosis.

The nucleus of the ordinary Amoeba is a large circular disc with a definite and relatively thick nuclear membrane and with chromatin in the form of granules of rather small size. During the vegetative stages it is hollowed on the two sides, so that it forms a bi-concave disc, but in the large nuclei of the stage under discussion the nucleus swells out and becomes nearly spherical, although the biconcave structure may still be seen in the earlier stages. Photograph No. 1 represents an Amoeba in the early stages of this period. Its nucleus is single and shows evidences of the biconcave nature, although it is now in an almost spherical shape. Figure 13 is a drawing showing the same nucleus in detail. The chromatin is in the form of comparatively small granules and is evenly distributed throughout the nucleus. I did not succeed in finding an uninucleate individual with the nucleus in mitosis, but I found one individual in the next division-stage where the two nuclei are preparing to divide into four, and in which each nucleus is in the prophase of mitosis (photo 2 and fig. 15). In another individual in a very late stage of development with the secondary nuclei already formed, the sole remaining large nucleus is in full mitosis (fig. 14 and photo 11).

In the formation of the mitotic figure there is, apparently, no change in the chromatin granules, they simply collect in a central mass which thus marks the nuclear plate. There is no evidence of chromosomes and no spindle fibers, although lines of chromatin granules may run from the central mass to the nuclear periphery and thus simulate fibers (fig. 14). The nuclear material divides in the center and without division of the several granules, for these are passively separated into two groups passing to the two poles of the nucleus. The nuclear halves may become twisted in the latter part of the division and the figure then resembles the mitotic figure of a micronucleus in the telophase, or the later stages in the division of the Noctiluca nucleus (fig. 17). Again the two daughter

parts may be symmetrically arranged, and in this condition they show the chromatin in two daughter-plates (fig. 18 and photo 4). With continned division the nuclei become smaller and smaller until they are no more than half the size of the original nucleus. Throughont this period of division other changes are taking place in the chromatin granules. They increase in size until they are many times larger than the original chromatin particles. When this growth has reached a certain size the nuclear membranes dissolve and the nuclear contents are liberated. The changes mentioned above, which the chromatin granules undergo in the nuclei, may be followed from the time of earliest divisions. It may be seen from the figures that some of the chromatin granules remain at the nuclear periphery and do not get into the nuclear plate. It is these grannles, apparently, that form adhesive thickenings on the inside of the nuclear membrane, and made conspicnons by their somewhat larger size. As the nuclei decrease in size through continued division, these granules increase both relatively and actually, until they ultimately burst out of the nucleus.

There is no trace in these large nuclei of a division center, and nothing, apparently, to indicate the presence of pole-plates. I would reserve final decision on this latter point, however, nntil the nuclei are sectioned and stained in a manner to bring out such structures if present. With the total mounts which I have, there is no indication of the division centers nor of material that might be interpreted as forming snch an organoid of the nucleus.

b) The Grannles and their Fate.

There seems to be little reason for doubt that the granules which are thus liberated from the nuclei in *Amoeba proteus* form the equivalent of the so-called "chromidien" in Polystomella and other forms of rhizopods. There is no trace of such material in the earlier stages with one or two nuclei, and the first appearance of the distribnted chromatin that I have found is in a stage when fifteen nuclei were present. In specimens with 1, 2, 7, 9, 12, 13 and 14 nuclei I have been unable to find any of the chromatin grannles outside of the nuclei. There are a few in a specimen having 15 nnclei; about the same number in one having 20 nuclei and a great many more in a specimen having 26 nuclei, bnt, on the other hand, there were only about twelve free chromatin granules in a specimen having 27 nuclei (photo 5). It appears then to be

fairly clear that nuclear fragmentation begins at about te time of the fourth or fifth division of the primary nucleus, and that this varies to some degree in different individuals. In a specimen with 33 nuclei there are a great many granules of various sizes, and with one exception, 33 is the largest number of complete nuclei that I have seen. From this point the decrease in the number of formed nuclei is accompanied by the increase of the distributed granules. In a specimen with 25 nuclei, many of which are in the process of fragmentation, there is a great quantity of the distributed chromatin, or, as I may call it, "protogonoplasm".[1] In another specimen with 13 nuclei (photo 7) the cell-body is well filled with the chromatin granules, or protogonoplasm; in another with 9 complete nuclei the accumulation is still greater, and nearly all of the 9 nuclei are in the process of fragmentation (photo 6). In only one case (photo 8) did I find a large number of nuclei, the majority of which were in the process of fragmentation at the same time. In this case there were about 80 nuclei and the granular products into which they had broken up were much larger than those of the other forms. Whether this has any special significance or not I am unable to say.

Immediately after liberation from the nucleus the granules are homogeneous and show no indication of a central spot which can be made out somewhat later. The granules, furthermore, are of different sizes, and the same nucleus gives rise to both large and small forms. In the cytoplasm they must change quickly into minute nuclei of a definite type, for the great majority of the granules which I find in the cell body are well-formed secondary nuclei. Each consists at first of a small homogeneous sphere of chromatin in the center of which is a more definite spot or point which corresponds with the division-center of the flagellate nucleus. This is in the center of a small vesicular area, and around this area the material of the small nucleus is at first perfectly homogeneous. After some time, apparently, the granule swells by absorption of fluids and the peripheral portion loses its homogeneous aspect and becomes granular (figs. 25 and 23), while the central spot, or the division-center, becomes more clearly differentiated.

It is in the stage last described that one of the most surprising processes of the entire series of phenomena was noted, viz., the

[1]) For first use of this term see CALKINS (1904). The Life-History of Cytoryctes variolae, Guar. Journ. Med. Research, Vol. XI.

division of the minute nuclei by a modified mitosis (fig. 23). This division process agrees in all its stages with the well-known division-type of the more simple flagellate nuclei such as the nucleus of Euglena or of Synura, or Chilomonas, and corresponds probably with the division of the chromatin granules, as described by SCHEWIAKOFF in the case of Achromatium. The division-center first divides, and the daughter-halves pull out into a dumb-bell structure. In the meantime the peripheral chromatin begins to divide into equal parts about the halves of the division center. Finally the daughter-nuclei are connected only by the nuclear membrane and by the connecting strand of the division center. These ultimately break, and the two daughter-nuclei become independent. In some specimens the cytoplasm is nearly filled with division figures of these nuclei, the significance of which is not altogether clear.

As to the exact origin of these minute nuclei I am in some doubt. In the other rhizopods in wich the protogonoplasm is thus formed by fragmentation, similar secondary nuclei are made up by the aggregation of the finer granules. This is the case, for example, in Polystomella, Centropyxis and Chlamydophrys, as observed by SCHAUDINN, and this is supported by the fact that no chromatin granules are left unused. It is not inconceivable, on the other hand, that their size is attained by the absorption of fluids from the cytoplasm as soon as the granules are liberated from the nucleus, for very few small granules are apparent in the cytoplasm of specimens where the nuclei are in the process of fragmentation.

I have no means of knowing how many divisions these minute or secondary nuclei undergo before they become metamorphosed into the final definitive cyst nuclei. The two encysted specimens which I have in preparations do not show more than four or five hundred nuclei in the cysts (*e. g.* photo 12), and if each of the sixty or seventy primary nuclei gives rise to ten granules, and if these granules become metamorphosed into secondary nuclei which divide even once, the result would be many more nuclei in the end than the cysts show. From such a calculation it is justifiable to assume either, that some of the granules are absorbed in the cytoplasm, or that that fusion of the lesser ones takes place to form the secondary nuclei, and this, I believe, is the more probable explanation. In the specimen from which photo 11 is taken I can count between 250 and 300 nuclei which are considerably larger than the granules as shown for example in photo 7. But, on the other hand, the nuclei of photo 12 or photo 11 are no larger than the comparatively large

granules into which the nuclei disintegrate in the specimen shown in photo 8. Here there are many nuclei undergoing fragmentation, and each gives rise to about six large homogeneous granules. If there is no fusion, the end product of this universal fragmentation might very well be a form like that shown in photo 12. It is conceivable also that a form like the one shown in photo 7 gives rise to another type of product than that shown in photo 12, possibly to a different sex. Obviously it is of little value to speculate on the basis of these few specimens as to the origin of these secondary nuclei or the possibility of differences among them, and decision must be deferred until more material is available.

Another point to be mentioned and to be left unexplained is the large homogeneous mass of chromatin found in specimens with secondary nuclei (photo 11 and fig. 27). A similar mass is hidden among the nuclei in photo 12, and a more solid and homogeneous mass may be seen in photo 2. In the latter case I have no hypothesis to offer; if this represents an early stage, then the mass of chromatin is difficult to interpret on the basis of comparison with the large primary nuclei of Polystomella and allied forms where the primary nucleus is absorbed in the cytoplasm. Further material alone can settle these points.

The final nuclei have the form of hollow spheres with the chromatin arranged about the periphery and with no trace of the central division-center. In many cases I was able to make out a definite granular arrangement of the chromatin as pictured in figs. 24 and 27, in which the resemblance to a sporulating parasite is somewhat striking.

c) Pelomyxa forms and the Sexual-cycle of Amoeba proteus.

In studying the animals alive, I was very much struck with the resemblance which the later stages of this Amoeba-cycle bore to the smaller Pelomyxa-like organisms found in the culture. Not only did they resemble one another superficially, but the similarity was striking in their finer structures as well. The nuclei of Pelomyxa, as is well known, are minute structures with a central granule of chromatin, that is, they are described as vesicular nuclei and two hundred to three hundred of then are present in large specimens of *P. palustris*. When the forms in question were first observed, I took them to be Pelomyxa without the characteristic Glanzkörperchen, but upon studying them more closely, I found that they

are connected with the above-described series of forms in the Amoeba group. The granules of the disintegrated nuclei after metamorphosis become identical in size and structure with the nuclei of these supposed Pelomyxa, and in one case at least (photo 11), the Pelomyxa-like organism is an unquestionable Amoeba which has passed through the stages of nuclear fragmentation. The stages represented by the photos 11, 9 and 10 represent only the antecedent phases of an encysted stage like that shown in photo 12.

The question now arises, is this supposed species of Pelomyxa only one phase of an Amoeba-cycle which, like the megalospheric generation of Polystomella, is the antecedent or parent organism of a sexual individnal or of isogamous conjugants? In the preparations which I have, there is certainly more evidence for this view than for the view that the organisms with the multiple primary nuclei are only young or imature individuals of the genus Pelomyxa. The fact that the end of the process of nuclear fragmentation is the formation of cysts with multiple secondary nuclei supports the assumption of a sexual phase; and as the early forms in the series cannot be identified as other than *Amoeba proteus*, we may carry the assumption further and say that the evidence points to certain forms usually ascribed to the genus Pelomyxa, as the sexual phase of *Amoeba proteus.*

II. Significance of the multinucleate condition and of nuclear fragmentation in Amoeba proteus.

Notwithstanding the fact that my observations are incomplete and that I have failed to get the entire story, there is sufficient evidence, I believe, to justify the conclusion that this process of fragmentation is the prelude to the formation of the conjugating gametes of *Amoeba proteus.* This conclusion is based upon the fact that similar processes have been followed out to the end in allied forms of protozoa, and that, in each case, the result of the nuclear increase is fragmentation, and the result of fragmentation is the formation of a great number of conjugating gametes, sometimes flagellated (Chlamydophrys, Hyalopus, Polystomella), sometimes amoeboid (Centropyxis). I venture to predict, therefore, that when the material is forthcoming, the conjugating gametes will be found

to be flagellated swarm-spores, and that the process of fragmentation with the ensuing encystment, will be proved to be antecedent to the formation of the sexual elements.

There is a surprising ignorance regarding the life cycle of *Amoeba proteus*, notwithstanding the universal distribution and the thousands of eyes that are annually directed to this form. A few observations here and there have indicated that processes are going on which are similar to those of established forms. For example, an isolated observation by Gruber of what appeared to be the end of amitotic process, indicated that mitosis is to be seen in this form, but the lack of confirmation and the absence of further evidence show that the process at best is very rare. Again the observation by Schaudinn of Amoeba with many nuclei gave him the hint that something analogous to the reproductive processes of the foraminifera might be expected. There is reason to believe, however, that, had the relations of the "Chromidien" to sexual reproduction been known as recently established by Schaudinn[1]), the complete life-history of *Amoeba proteus* would have been worked out nearly fifty years ago. About that time there was published in the Annals and Magazine of Natural History a number of papers by H. J. Carter and G. C. Wallich on the structures, habits and reproduction of amoeboid organisms. Many observations were made by these skilful observers which have never been satisfactorily explained, especially those in connection with the nuclear changes and their relations to reproduction. Thus Carter in 1856 records the observation that granules of nuclear origin nearly fill the body of Amoeba at one period, and that these granules are later distributed by the bursting of the Amoeba, in this case *Amoeba gleicheni* and *A. radiosa* (*A. proteus*). These granules were regarded at the time as "spermatozoids", and Carter held that similar structures were found in other forms of rhizopods as well. The process, as he described it, is inaugurated by increase in size of the nucleus and by the chromatin contents becoming more distinctly granular. Then the modified nucleus divides several times and "several segments" are formed, each of which assumes a globular form and contains developing or enlarging granules which finally "acquire the pover of locomotion" and then separate from one another. "At other times the whole mass of spermatozoids all separated, and having left their capsules (nuclear membrane),

---

[1]) Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte XIX 1903.

may be seen to fill the body of the Amoeba whilst still under active polymorphism and locomotion. Lastly, the parent sometimes dies in this state, and then the mass of spermatozoids may be seen to undergo gradual disintegration, as the granules, by twos and threes, or more, disentangle themselves from the sarcode and bound off into their new element." [1]) Here then, the observer noted the disintegration of the nucleus in a species of Amoeba, and the formation of a number of minute motile elements presumably flagellated, and derived from the nucleus. Again the same observer in 1863, speaking of the changes in *Amoeba princeps*, which is now generally regarded as the same as our common *A. proteus*, stated that, in young forms, the nucleus is scarcely larger than a human blood corpuscle, but that it grows as the organism increases in size, until, when the latter is about one tenth of the adult size (in this case about 1—250 part of an inch) it divides into two similar nuclei. This initial division is followed by others of similar nature until upwards "of 70 are produced". As in my own observations described above, he also noted a reduction in size as the division progressed, and that the nuclei become more "granuliferous", while food particles are gradually disposed of and the Amoeba becomes a mere sac of nuclei, or, as he calls them "reproductive cells". The detailed history of these was not followed further by Carter, but it is significant to note that he observed the nuclei in this form to divide again and again, and the nuclear chromatin to become distinctly granular, while in another form of Amoeba, similar granules were observed to become motile elements after the organism had disintegrated.

Somewhat similar observations were made by Wallich in the same year (1863) and upon a closely allied form, possibly an identical form, *Amoeba villosa*. When the water containing these Amoebae was allowed to evaporate, Wallich found that the nucleus which was in the form "of a granular mass" broke up by a process of segmentation into numerous distinct nuclei from five to twelve in number. These, when pressed out from the endoplasm, would disintegrate and the granules would roll out and enter upon a rounded quiescent state. At a later stage Wallich found in these Amoebae a number of minute bodies with homogeneous structure which became aggregated to form true nuclei [2]) (my secondary nuclei). These he

[1]) H. J. Carter, Fresh Water Infusoria of Bombay. Ann. and Mag. Nat. Hist. (2) 1856 XX p. 226.

[2]) G. C. Wallich, On an undescribed Form of Amoeba. Ann. and Mag. Nat. Hist. (3) II p. 438.

called "sarcoblasts" and believed they had the function of reproductive bodies. Even when the large numbers of sarcoblasts are present, the nucleus was seen to undergo division, and he speaks of watching the sarcoblasts form into reproductive bodies in *Amoeba villosa* while encysting (p. 462) (cf. my photo 11).

Thus we have in these early observations a number of instances which bring the genus Amoeba into line with the reproductive processes of the allied foraminifera as worked out by the recent students of the latter group. In this process in foraminifera the nuclear fragmentation which HERTWIG described in Actinosphaerium, and which SCHAUDINN identified with "Chromidien"-formation, is evidently the same thing as these processes which CARTER and WALLICH observed long ago and vaguely interpreted as reproductive processes.

The full significance of these various observations does not come out clearly until we compare the processes observed with those occurring in forms where the life-cycle is completely known. Some further phases in Amoeba, indeed, are already established. Thus, thanks to the observations of SCHEEL, one phase of the encystment and reproduction by what is known in sporozoa as a process of schizogony, takes place in the ordinary vegetative cycle of *Amoeba proteus*. In this process the vegetative form becomes encysted, the nucleus fragments into a number of daughter nuclei which migrate to the periphery of the cyst, and then the protoplasm breaks into as many parts as there are nuclear fragments. The resulting spores are not flagellated, but become pseudopodiospores (LANG). The phase thus briefly outlined represents an asexual method of reproduction, which, combined with simple division, constitutes apparently the chief method of reproduction of this interesting form. It does not close the cycle however, but SCHEEL's work and that of all other recent observers, leaves out of consideration all of those processes which in other protozoa are known as the sexual phases. In other forms of sarcodina the sexual phases are indicated by slightly different processes from those described above, but on the whole they are similar enough to be included as the same type of phenomena. In some cases, as for example in Polystomella, the nucleus after fertilization multiplies by division until there are many of them in the young chambers of the developing foraminiferon. Then begins a process of fragmentation which results in the disintegration of all of the young nuclei into fragments and without the formality of mitosis. In this process the more peripheral nuclei are the first to disintegrate, but the process extends gradually to the more internal

ones until none is left intact.[1]) The protoplasmic mass becomes filled with these minute chromatin granules which form a "distributed nucleus" or, as Hertwig calls it, a chromidium. Analogous substances are found in a number of the lower forms of the protozoa and a condition which I have called that of the "distributed nucleus" is the permanent condition in a number of cases. In every rhizopod where this has been followed out to the ultimate product, it has been seen that the granules of the "chromidium" become the nuclei of the minute reproductive elements endowed with the function of conjugation, that is, they become the sexual nuclei. For this reason in part, and especially because in some forms these granules become the spores of the organism (*e. g.* in *Cytoryctes variolae*), I have given to the substance the name of protogonoplasm, to replace the term chromidium which is already in use by botanists, to designate an entirely different substance. The material of the chromidium, or protogonoplasm, then, is characterized by the fact that it becomes the material of the nucleus of the reproductive elements, in the case of Polystomella it is the material of both the conjugating gametes or flagellispores, and products of schizogony, or pseudopodiospores. The pseudopodiospores are formed by the protoplasm of the adult microspheric forms flowing out of the shell and fragmenting into small Amoebae, each with a set of chromatin granules distributed throughout the protoplasm. These young swarmers settle down and form a shell of another type from the parent, *viz.*, a megalospheric shell. The nuclear material or protogonoplasm increases in amount with growth of the organism until after a definite size is attained, many of the granules come together and form a huge nucleus which represents a sort of waste mass of nuclear material, for it takes no further part in the reproduction of the organism. The remainder of the protogonoplasm, or chromidium, or nuclear material, whatever we choose to call it, accumulates in like manner to form the minute nuclei of the next reproductive cells, the flagellated swarm-spores, or flagellispores of Lang, and these conjugate with similar flagellispores from another megalospheric individual. The copula then repeats the formation of the microspheric individual.

The important point to note here is the disintegration of the nuclear contents to form the protogonoplasm or distributed chromatin, and that from this material thus distributed the nuclei of the con-

[1]) see Schaudinn, l. c., for details.

jugating gametes are formed. SCHAUDINN observed fnrther that the secondary nnclei divide by mitosis, so in this point also Amoeba agrees with Polystomella. It is perhaps not legitimate to conclude from the observations npon a few forms that this is the characteristic antecedent of all gamete nnclei, or that such a fragmentation represents the beginning of the sexnal generation. But the fact that this process takes place in a number of instances is sufficient to warrant the acceptance of a similar phenomenon in other forms as evidence in favor of snch an hypothesis. Such a fragmentation is exactly what we get in the case of *Amoeba proteus* at one stage of its life-history while in an allied form of freshwater rhizopods, *Centropyxis aculeata* SCHAUDINN has shown that, as in Polystomella, this process precedes the formation of conjugating gametes. In this case, after the characteristic budding-divisions are ended, the individuals grow larger and their nuclei ultimately break down into fragments which become the "Chromidien". This granular chromatin fills the cytoplasm and shortly after its formation the protoplasm fragments into psendopodiospores which, at first, have only distribnted chromatin granules, but later, these granules collect and form a vesicnlar nuclens of quite different form from the nncleus of the parent organism. The process is quite similar to that of the formation of the secondary nuclei in Arcella, which, according to HERTWIG, arise in the same way by the accumulation of the granules of protogonoplasm. The young pseudopodiospores ultimately secrete a shell which agrees in its finer strncture with that of the parent form, but it has an entirely different shape. Some, however, divide first before forming a shell, and from one individual pseudopodiospore as many as four minute swarmers may develop, each with a definite morphological nucleus derived from divisions of the vesicular nucleus which was formed from the aggregation of the protogonoplasm granules. The minute individnals formed by this process next secretet shells like those of the larger swarmers, two sizes of gametes bring thus formed, and the small ones (microgametes) conjugate with the larger ones (macrogametes). In this case, then, again as in the case of Polystomella, the vegetative nuclei fragment and give rise to distributed chromatin or "Chromidien", or protogonoplasm, from which the sexual nuclei are in turn derived by the coalescence of these granules into more minute nuclei of a definite type, but different from the original vegetative nucleus.

A very similar process was described, also by SCHAUDINN, in the case of the allied but parasitic form *Chlamydophrys stercorea*,

involving a like fragmentation, a like gamete formation and conjugation of micro-gametes. In addition he has seen the fragmentation of the nuclei and the formation of small nuclei by aggregation of the protogonoplasm in the parasitic amoeboid forms *Entamoeba coli*, and *Entamoeba histolytica*.

Thanks to the multitude of facts which this skillful observer has brought together, we are now in a position to generalize to some extent, and to interpret processes which would have been unintelligible without his pioneer work.

SCHAUDINN himself, like CARTER and WALLICH, records the appearance in *Amoeba proteus* of more than one nucleus, and in



a) Supposed young form of Amoeba proteus after fertilization (unknown).
b) Amoeba radiosa stage with characteristic radiate pseudopodia.
c) Typical Amoeba proteus in the condition most often seen.
d) Division-phase in the adult stage.
e) Encystment and pseudopodiospore-formation (from SCHEEL's account).
f) Liberation of the pseudopodiospores (SCHEEL).
g) Large uninucleate form which by mitosis, gives rise to the multinucleate condition shown in h.
h) Multinucleate stage and preparation for fragmentation and the beginning of the supposed sexual generation.
i) Fragmentation of the nuclei and formation of the protogonoplasm.
j) Secondary nuclei-formation and residual primary nucleus.
k) Encystment preparatory to the final gamete (? unknown) formation.

connection with this form he suggests „daß außer der bekannten, sich durch Teilung fortpflanzenden einkernigen Generation, die am Ende ihres vegetativen Lebens sich encystiert und durch Schizogonie vermehrt, noch eine zweite mehrkernige existiert, die vielleicht ihr vegetatives Leben mit einer Geschlechtstätigkeit beendet, wie wir dies von manchen marinen Rhizopoden wissen oder als wahrscheinlich vermuten etc.".[1])

All of my observations as outlined above indicate that SCHAUDINN was right in prophesying that a second, multinucleated, generation of *Amoeba proteus* might exist which ends its vegetative life by sexual activity. My observations not only indicate that this may be so, but also that the adult condition of this multinucleate generation is very closely similar to, if not identical with, certain species (so-called) of Pelomyxa.

In conclusion, we may summarize all observations thus far made and obtain a tentative life-cycle as follows: The fertilized cell of Amoeba (unknown at present) gives rise to a young amoeboid organism formerly known as *Amoeba radiosa* (?). This grows to form the well-known *Amoeba proteus*, which reproduces vegetatively (schizogony) by division and by pseudopodiospore-formation (described by SCHEEL). These amoeboid swarm-spores develop into large amoeboid organisms with multiple nuclei, and ultimately become metamorphosed into Pelomyxia-like forms with several hundred secondary nuclei, and these finally encyst (my own observations). The products of the encysted multinucleated forms are unknown as yet, but analogy with other established forms of rhizopods, leaves little doubt that these products will be either flagellispores or pseudopodiospores, which conjugate and thus produce the fertilized egg with which the cycle starts anew. This cycle is shown schematically in the diagram.

Columbia University, New York City, April 1904.

Description of Figures.

Plate I and II.

Photographed from permanent preparations.

Fig. 1. Large Amoeba proteus with one nucleus. Pseudopodia characteristic. X 150 diam.

[1]) l. c. p. 548.

Fig. 2. Specimen with two nuclei and large massive body consisting of chromatin. The smaller dark bodies are foreign particles. X 150.

Fig. 3. Specimen with about 17 medium nuclei, no distributed chromatin. X 150.

Fig. 4. Specimen with about 27 nuclei of considerably smaller size. X 150.

Fig. 5. Specimen with about 28 nuclei and with some protogonoplasm. X 150.

Fig. 6. Specimen with relatively few complete nuclei and much protogonoplasm. X 150.

Fig. 7. Specimen with about 13 complete nuclei and much protogonoplasm. X 150.

Fig. 8. Specimen with many nuclei (about 70) most of which are undergoing fragmentation to form protogonoplasm. X 150.

Fig. 9. Pelomyxa-like form with many minute nuclei. X 150.

Fig. 10. Specimen similar to last nearly ready to encyst (?). X 150.

Fig. 11. Specimen with many secondary nuclei and one primary nucleus in full mitosis, and one large homogeneous mass similar to that in figure 2. X 150.

Fig. 12. Encysted specimen with the secondary nuclei now in the form of definite vesicular bodies the granular arrangement of which can almost be made out. X 150.

Plate III.

All figures in this plate are drawn to the same scale and are magnified about 1200 diameters. Camera drawings throughout.

Fig. 13. Single nucleus from specimen shown in fig. 1.

Fig. 14. Nucleus (primary) from specimen shown in fig. 11. Full mitosis.

Fig. 15. Two nuclei in the metaphase from the specimen shown in fig. 2.

Fig. 16. Nucleus from the specimen shown in fig. 3. The characteristic grouping or clumping of the chromatin about the membrane is shown.

Fig. 17 and 18. Two successive division stages of the primary nucleus from specimen shown in fig. 4.

Fig. 19—22. Nuclei showing the formation of the large chromatin spheres in the preparatory stages of fragmentation.

Fig. 23. Successive division-stages in the development of the granules derived from the fragmented nuclei. These appear to be derived from granules like those shown in fig. 22 and the grow into secondary nuclei of the type shown in fig. 27.

Fig. 24. Two later stages in the growth of the secondary nuclei and formation of the peripheral granules.

Fig. 25 and 26. Two stages in the fragmentation of nuclei with large granules. From specimen shown in fig. 8.

Fig. 27. Detail from specimen shown in fig. 12 of an encysted form, showing the remaining primary nucleus and the formed secondary nuclei.

(Aus dem physiologischen Institut d. K. Universität zu Moskau;
Direktor Professor L. Morochowetz.)

Zur Methodik der biologischen Untersuchungen über die Protisten.

Von

Dr. med. **Paul Statkewitsch**, Assistent und Privatdozent.

I. Methoden einer beständigen Kultur der Protisten.

I. Heu- und Blätteranfguß. Praktische Bedeutung der Erklärung der Bedingungen, unter denen die Kultur ununterbrochen fortdauert.
II. Bedingungen der Depression der Kultur und der senilen Entartung der Protisten. Beobachtungen von Balbiani, Kulagin und Calkins.
III. Abhängigkeit der ununterbrochenen Fortpflanzung der Protisten von der Regelmäßigkeit des Stoffwechsels. Belebungsmethoden der Kultur: Abspülung, Mischen, Neutralisation und Zusatz von Salzen.
IV. Schluß.

I.

Die Kultur der zu biologischen Untersuchungen dienenden Protisten wird in Heu- oder Blätteraufguß mit gewöhnlichem Wasser vorgenommen. Es werden auch Kulturen in Teich- oder Sumpfwasser bereitet, wobei man oft ein Stückchen Fleisch oder Fleischbrühe hinzutut. Will man reine Kulturen bestimmter Gattungen haben, so versetzt man die Protisten in einen aufgekochten Blätteraufguß.

Als wesentliche Bedingung des Erfolges bei Untersuchungen über die Protisten erscheint das ständige Vorhandensein lebenden Materials zu Beobachtungen und Experimenten. Unter den sonst

üblichen Bedingungen sterben die Kulturen bald aus, was natürlich allen Beobachtungen und Experimenten ein Ende macht. Deshalb bietet uns die Erklärung der Verhältnisse, in welchen wir immer eine gute Kultur haben können, ein großes praktisches Interesse. Die Zahl der Teilungen der Protisten ist, der allgemeinen Meinung nach, beschränkt; die neuesten Beobachtungen lassen uns jedoch dieses bezweifeln. Indem ich die nachfolgenden Methoden anwandte, konnte ich immer über eine lebenstätige Kultur verfügen im Laufe mir erwünschter Zeit.

II.

Gehen wir jetzt zur Literatur der Frage über die Grenze der Teilungsfähigkeit der Protisten über.

1. Die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Infusorien, die in Querteilung besteht, kann nicht ins Unendliche fortdauern. Eine Kultur, die sich selbst überlassen ist, wird nach einer bestimmten Anzahl von Teilungen alt; dieser Periode des Alters geht die sog. Depression voran, d. h. die Erschöpfung der Kultur. Dabei zeigen sich folgende atrophische Prozesse: der Verlust des Wimperteguments, des Mundes oder der Speiseröhre und hauptsächlich die Veränderung des Makronukleus und der Schwund des Mikronukleus. Die Ursache dieser senilen Entartung ist, wie es scheint, die Vergiftung mit den Stoffwechselprodukten, die sich in dem Medium ansammeln, in dem die Infusorien leben und die den Nukleus und das Protoplasma der Protisten schädigen. Diesen Gedanken sprach zum ersten Male Prof. N. Kulagin (2, S. 274) aus auf Grund seiner Experimente im Jahre 1898. Er versetzte die Paramaecien successiv in neue Wasserbehälter mit Nahrungsvorrat von Heuaufguß und Fleischbrühe nach der Art des Prof. W. Schewiakoff (die Experimente wurden auf Deckgläsern nach E. Maupas' Methode gemacht) und brachte dadurch die Verjüngung und die Fortpflanzung derselben hervor.

2. Die Notwendigkeit der Erneuerung des Nahrungsmaterials war schon im Jahre 1898 aus Balbiani's (3, S. 522) Arbeit bekannt, welche eigentlich von der Wirkung verschiedener Salze und des Meerwassers auf die Wimperinfusorien handelt. Er kultivierte 8 Jahre lang Paramaecien in 30 Gläsern von 150 cm Kapazität. In diese Gläser brachte er einen Tropfen mit den besten Exemplaren von Paramaecien und Bakterien, welche nach seinen Worten den Paramaecien zur ausschließlichen Nahrung dienen. Zur Nahrung und Fortpflanzung der Bakterien wurde an einem Faden, der an den Propfen befestigt war, ein Säckchen mit gekochten, feingeschnittenen

Blättern heruntergelassen; das Aufkochen hatte den Zweck, alle anderen Keime zu töten. Dieses Säckchen, sowie auch das Wasser, wurde in den Gläsern nacheinander gewechselt, und auf diese Weise wurde eine reine Kultur von Paramaecien im Laufe von 8 Jahren unterhalten.

3. In letzter Zeit stellte sich G. Calkins (4) als Hauptziel seiner Arbeit die Frage, ob die Nahrungsveränderung dem Streben der Protisten zur Ansartung entgegenwirken könne. Aber diese Frage war schon im Jahre 1898 positiv entschieden auf Grund der Experimente von N. Kulagin und Balbiani. Der erste erhielt im Laufe eines Monats 20 Generationen der Paramaecien, worauf er seine Beobachtungen unterbrach. Die Paramaecien des zweiten gaben ununterbrochen neue Generationen 8 Jahre lang. Indem ich diese Frage für entschieden hielt, begann ich seit dem Jahre 1899 meine Methoden anzuwenden, bei welchen ich immer über reine Kulturen verschiedener Protisten während der Dauer von 8—10 Monaten verfügen konnte.

Die Arbeiten von E. Balbiani und von N. Kulagin waren Calkins leider unbekannt geblieben. Das Konstatieren des Faktums, daß die Paramaecien keinen bestimmten Endcyklus des Daseins haben und daß die Zahl ihrer Teilungen von den Nahrungsverhältnissen abhängt, muß E. Balbiani und N. Kulagin zugeschrieben werden.

Nichtsdestoweniger wird der Wert der Calkins'schen Arbeit dadurch auf keine Weise vermindert. G. Calkins isolierte den 1. Februar 1901 zwei Individuen von Paramaecien A und B, die zwei Serien von Kulturen gaben: vom 1. Mai 1902 gab die Serie A 553 Generationen, und die Serie B 505. Im Laufe von 15 Monaten waren die Kulturen 4 mal im Stadium der Depression, beinahe immer nach 3 Monaten; jedesmal wurden sie künstlich belebt: das erste Mal durch eine mechanische Bewegung, das zweite und dritte Mal durch Ersetzen des Heuaufgusses durch Fleischextrakt, und das vierte Mal, wahrscheinlich, durch Temperaturveränderungen. Calkins (4) schreibt die Verbesserung der Kultur dem erregenden Einfluß der eben erwähnten Bedingungen zu; um eine Erregung hervorzurufen, genügt eine geringe Änderung im Medium; dasselbe kann auch im natürlichen Wohnort der Paramaecien vor sich gehen. Sogar die geringsten Quantitäten von Strychnin und Alkohol vermindern die Lebensfähigkeit der Kultur (5).

Es ist klar, daß alle diese erregenden Einflüsse, wie mechanische Bewegung, Zusatz von Fleischextrakt, Temperaturänderungen, not-

wendigerweise mit der Veränderung der Nahrungsbedingungen in der Kultur zusammenhängen. Folglich stimmen in dieser Hinsicht Calkins' Beobachtungen mit denjenigen Balbiani's überein und bestätigen die Voraussetzung von Kulagin.

III.

1. Die Entwicklung der Protisten bedarf einer nahrungsreichen Kulturflüssigkeit; bei Vorhandensein von assimilierbaren Stoffen wird die unbeschränkte Dauer der Infusorien, das heißt ein ununterbrochenes Ersetzen einer Generation durch die andere ermöglicht. Setzt man die Nahrung aus, so wird die Entwicklung und Fortpflanzung der Kultur aufgehalten, und bald sehen wir die letztere ganz aussterben. Nach dem allgemeinen Gesetz des Stoffwechsels eignen sich die Protisten die ihrer Entwicklung nützlichen Stoffe zu, indem sie die Produkte der Dissimilation ausscheiden. Allmählich wird die Quantität der letzteren vorherrschend und sie erweisen sich für die Kultur als schädlich. Die regelmäßigen Nahrungsprozesse werden unterbrochen und die Protisten unterliegen einer Reihe von Degenerationsänderungen, die noch nicht hinlänglich untersucht sind. Somit ist die Frage von der ununterbrochenen geschlechtslosen Fortpflanzung der Protisten, d. h. von dem Beleben der Kulturen, innig mit der Frage von deren Nahrung verbunden. In vorliegendem Artikel beschränke ich mich nur auf die Schilderung der Methoden des Belebens der Protisten, die vor allem dem oben erwähnten physiologischen Prinzip, das für alle lebende Wesen gleich ist, Genüge leisten.

2. Im Laufe der letzten vier Jahre wandte ich einige Methoden des Belebens oder der Besserung der Kulturen an, von denen folgende sich als die besten erweisen.

a. Es besteht diese Methode darin, daß man die schädlichen Produkte aus dem Medium entfernt und sie durch frische Nahrungsstoffe ersetzt.

Die Kulturen der Infusorien befanden sich gewöhnlich in breiten Glasgefäßen (Diam. 6 c., Höhe 15 c.), oder in gewöhnlichen Bunsenschen Gläsern, die bis $^2/_3$ mit Wasser und verschiedenen Blättern gefüllt waren. Das Wasser wurde jede 4—6 Wochen in solchem Glase gewechselt. Die Hauptbedingung beim Wechseln des Wassers besteht darin, daß letzteres immer in gleicher Höhe bleibe. Auch muß das Wechseln sehr langsam vor sich gehen, es dauert manchmal 1—2 Stunden.

Ein Kautschukrohr, dessen Ende aus Glas besteht, wird bis zum Boden des Gefäßes niedergelassen und spielt die Rolle eines Syphons zum Ablaufen der Flüssigkeit aus dem Gefäß; frisches Wasser fließt aus einem Trichter zu, an welchem ein ähnliches Kautschukrohr aufgesetzt ist. Das Glasende dieses Rohrs wird in die Kultur auf 3—6 c. unter die Oberfläche des Wassers und an entgegengesetzter Seite des Gefäßes niedergelassen. Damit das Wasser im Gefäß stets die gleiche Höhe behalte, werden Schraubenquetschhähne auf beide Kautschukröhren aufgesetzt, mit deren Hilfe die Gleichheit des Zu- und Abflusses reguliert wird.

Auf diese Weise kann die Kultur durchgespült werden, und der Prozeß des Erfrischens des Wassers bringt den freischwimmenden Infusorien keinen Schaden. Verkommene und faulende Blätter werden mit einer Pinzette entfernt und durch frische ersetzt. Will man die Individualität der Kultur erhalten, so legt man besser aufgekochte Blätter ins Gefäß, obgleich es zu diesem Zwecke genügt, die Blätter mit einem Wasserstrahl abzuwaschen.

Auf solche Weise erfrischte und belebte Paramaecien lebten bei mir ganze Monate und ich konnte stets für meine Experimente über große Quantitäten derselben verfügen, wenn ich nur die Kultur nach beschriebener Art behandelte. Nach Beendigung der Experimente wurde die Kultur sich selbst überlassen und die launenhaften Paramaecien verschwanden bald, wogegen die Colpidium colpoda, Colpoda cucullus, Chilodon cucullulus, Stylonichia mytilus und viele andere noch längere Zeit fortlebten.

Das periodisch auftretende Belebungserfordernis läßt sich zeitlich nicht immer genau fixieren. Es sind die Degenerationsprozesse, welche als Zeichen des Erfordernisses einer Belebung dienen. Bald nach letzterer beginnt eine heftige Fortpflanzungsperiode durch Querteilung, und alle Individuen bekommen ein wohlgenährtes Aussehen.

Wir bezeichnen die eben beschriebene Methode der Belebung oder Erfrischung der Kultur als *Methode der successiven Durchspülungen.*

b. Dasselbe Ziel wird durch eine einfachere Methode erreicht, die in einem Ersetzen schädlicher Dissimilationsstoffe durch passende Assimilationsstoffe besteht. Es ist nicht nötig, diese Produkte immer von außen zuzuführen; in der Kultur selbst, die mit verschiedenen Pflanzenstoffen reich versehen ist, befindet sich eine Menge von Nahrungsmaterial, das für die sie bewohnenden Infusorien vollständig genügt. Die Depression wird durch den schädlichen Einfluß der Dissimilationsprodukte hervorgerufen, welche verhältnis-

mäßig langsam in das umgebende Medium diffundieren und sich, hauptsächlich an der Oberfläche der Flüssigkeit, wo sich Algen, Bakterien und die Protisten befinden, ansammeln und toxisch auf dieselben wirken. Durch einfaches Umrühren der Kultur mit einem Glasstäbchen wird die Entfernung der schädlichen Elemente erreicht. Es wird dadurch sozusagen eine Selbstreinigung der Kultur bezweckt; infolge des Umrührens verteilen sich jedenfalls die schädlichen Produkte von der Oberfläche regelmäßig in der ganzen Flüssigkeit. Desgleichen regelmäßig verteilen sich die nützlichen Nahrungsstoffe, die sich am Boden des Gefäßes befinden, im ganzen Medium. Durch diese *Methode des mechanischen Umrührens der Kultur* wird die gleichmäßige Verteilung des Nahrungsmaterials erreicht und die Nahrungsbedingungen der Kultur dadurch verbessert. Wenn den Infusorien, z. B. den Paramaecien auch nur die Bakterien zur ausschließlichen Nahrung dienen, so bringt das Umrühren der Kultur die Bakterien, folglich auch die Paramaecien, in bessere Nahrungs- und Fortpflanzungsverhältnisse. Die Hauptbedeutung dieser Methode besteht in der mechanischen Entfernung der Dissimilationsprodukte, die sich hauptsächlich an der Oberfläche der Flüssigkeit ansammeln.

c. Dasselbe wird noch besser auf andere Weise erreicht. Es entsteht zuweilen auf der Oberfläche der Kultur eine ziemlich dicke Schicht, die hauptsächlich aus dicht verwachsenen Algen besteht; besonders oft bildet sich solch eine Rinde auf Heuaufgüssen. Um die Kultur zu beleben, genügt es, diese Schicht von der Oberfläche mit einem Kochlöffel oder sonst wie zu entfernen. Will man bessere Resultate erhalten, so neutralisiert man allmählich die Kultur mit einer Auflösung von kohlensaurem Natron; es ist von Nutzen, die Reaktion bis schwach alkalisch zu bringen. Diese *Methode der Neutralisation der Kultur* ist besonders nützlich in dem Fall, wenn in den höheren Schichten derselben sich eine saure Reaktion einstellt, wobei man eine Depression der Kultur bemerkt. Durch einfache Neutralisation wird sodann das Beleben der Protisten und ihre Fortpflanzung hervorgerufen.

d. Die vierte und letztere Methode der Besserung der Kultur besteht darin, daß zur Kultur einige Salze hinzugethan werden, hiermit sei bloß darauf gewiesen, daß besonders gute Resultate beim *Zusatz von sehr geringer Quantität von phosphorsaurem Calcium* in Pulver erhalten werden.

3. Ich verfolgte hier ausschließlich das Ziel, meine Methoden zu beschreiben, bei welchen im Laufe beliebiger Zeit eine Massenkultur der Protisten unterhalten und gestärkt wird, ohne mich mit

der Frage, wie die Fortpflanzung der Infusorien vor sich geht — ob eine Querteilung oder die Konjugation stattfindet — aufzuhalten. Dagegen ist es nötig, die wichtige Tatsache zu erwähnen, daß bei allen angeführten Belebungsmethoden, in denen die Nahrungsbesserung eine Hauptrolle spielt, die Fortpflanzung ausschließlich durch Querteilung vor sich geht. Konjugationen bemerkt man nur als seltene Abweichungen von der allgemeinen Regel (s. MAUPAS 1a, S. 403 und KULAGIN's Beobachtungen).

IV.

Folgende von mir erwähnten vier Methoden des Belebens und der Besserung der Kultur der Protisten, wie

1. *der successiven Durchspülungen,*
2. *des mechanischen Umrührens,*
3. *der Neutralisation,*
4. *des Zusatzes von Salzen*

beruhen alle auf strenger Beachtung der Bedingungen des regelmäßigen Stoffwechsels. Indem sie dem physiologischen Grundprinzip Genüge tun, geben sie die Möglichkeit, eine regelmäßige Ernährung, folglich auch eine ununterbrochene Fortpflanzung der Protisten zu unterhalten. Das Ableben ist eine Schwächung der Lebenstätigkeit; die Schwächung und der Verlust der Lebenstätigkeit werden durch schlechte Nahrungsverhältnisse hervorgerufen. Werden diese schädlichen Bedingungen entfernt und durch Bedingungen, die den regelmäßigen Assimilations- und Dissimilationsprozessen günstig sind, ersetzt, so geben die Protisten ununterbrochene neue Generationen.

1. E. MAUPAS: a) Recherches expérim. sur la multiplication des infusoires Ciliés. Arch. d. Zool. exper. et gen. 1888 T. VI 2 série. b) Le rajennissement caryogamique ches les Ciliés. Ibid. 1889 T. VII 2 série.
2. N. KULAGIN: Zur Biologie der Infusorien. Le Physiol. russe, Red. prof. L. MOROCHOWETZ, Moskau Vol. I Nr. 15—20. 1899.
3. E. BALBIANI: Etudes sur l'action des sels sur les infusoires. Arch. d'Anat. micr. T. II 1898.
4. G. CALKINS: Studies on the Life-History of Protozoa. I. The Life-Cycle of Paramaecium caudatum. Arch. f. Entwicklungsmechanik der Organismen Bd. XV H. 1 S. 139—184. 1902.
5. G. CALKINS & C. LIEB: II. The Effect of Stimuli on the Life-Cycle of Paramaecium caudatum. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 H. 3 S. 355—371. 1902.

II. Neue Methode des Studiums des Baues und der Bewegungen der Protisten in lebendigem Zustande.

Schleimig-kolloidale Medien.

I. Die Geschwindigkeit der Ortsveränderung der Protisten erschwert die Beobachtnngen und Experimente. Alte Verlangsamungsmethoden der Wimperbewegungen: mechanisches Andrücken, Narkotisieren, Vermischung mit Kirschgummi oder mit Gelatine, mit Tusche, Indigo, Karmin und dergl. Nachteile dieser Methoden.

II. Grundsatz der neuen Methode: die allmähliche Steigerung der Zähigkeit des Mediums; seine Vorzüge. Gruppen der schleimig- und protein-kolloidalen Stoffe. Drei Konsistenzgrade der Medien.

III. Charakteristik der schleimig-kolloidalen Stoffen: Lichen Caragaheen, Semen Psyllii, Semen Cydoniae, Gummi Tragacanthae, Agar-Agar. Die Gebrauchsarten der schleimig-kolloidalen Medien: unmittelbarer Zusatz zur ganzen Kultur, allmähliches Trocknen und Zugießen von Wasser im Uhrglase. Bereitung der Medien in Probiergläschen. Bedingungen des Aussterbens der Kultur in sehr steifen Medien; Autointoxikationserscheinungen; Beleben der Kulturen in schleimig-kolloidalen Medien schwacher Konsistenz durch die Methode der successiven Abspülungen.

IV. Schluß.

I.

1. Das Studium des Baues der Protisten in lebendem Zustande und ihrer Bewegungen bietet große Schwierigkeiten. Die Infusorien bewegen sich sehr rasch in dem Tropfenaufguß, worin sie gewöhnlich kultiviert werden, und verschwinden aus dem Gesichtsfeld. Die allgemeine Form der Infusorien und der Charakter ihrer Bewegungen, resp. der Weg, den die Tierchen machen, kann schon bei schwachen Vergrößerungen beobachtet werden; dagegen ist eine genaue Analyse dieser Bewegungen und eine ausführliche Untersuchung ihres Baues erst bei starken Systemen möglich, wobei das Auge klar und deutlich die Bewegungen der Wimpern oder Geißeln beobachten und verschiedene Protoplasmateile ziemlich lange studieren kann.

Das Spiel des Wimperapparates entzieht sich bei den sonst üblichen Bedingungen dem Studium. Unter normalen Verhältnissen sind die Bewegungen der Wimpern außerordentlich rasch, das Auge vermag nicht ihnen zu folgen, die Infusorien verändern ununterbrochen ihre Stellung aus einer Schicht des Wassertropfens in die andere. Endlich muß noch die erstaunliche Geschwindigkeit erwähnt werden, mit welcher einige Ciliaten plötzlich aus dem Beobachtungsfelde verschwinden und die gar keine Möglichkeit bietet, ihre Vor-

wärts- und Rotationsbewegungen zu untersuchen. Die morphologischen Bilder der Struktur des lebendigen Protoplasmas und der sich darin vollziehenden physiologischen Prozesse sind bei solch einer Geschwindigkeit der Ortsveränderung der Beobachtung unzugänglich.

2. Diese Bewegungen müssen somit verlangsamt werden, das Infusorium muß in Verhältnisse versetzt werden, die der Wimpertätigkeit einen Widerstand leisten, infolgedessen der Rhythmus der Wimperschläge herabgesetzt würde, die Bewegungen langsamer würden, die Ortsveränderung nicht so rasch vor sich ginge und die Beobachtung eines lebenden Protisten bei stärkeren Systemen sich ermöglicht.

a. Die Verlangsamung wird durch mechanisches Andrücken der Infusorien mit Hilfe des Deckglases oder durch Narkotisieren erlangt; aber die dadurch hervorgerufenen Verletzungen der Form und der Struktur macht diese Methoden nicht zufriedenstellend.

b. Zu demselben Zwecke bedienen sich die Zoologen schon längst des Kirschgummi. Einige Tropfen mit der Kultur entnommene Infusorien werden mit Hilfe eines Glasstäbchens in einem Uhrglase mit Kirschgummi verschiedener Konsistenz vermischt.

c. E. Stahl (1, S. 12) schlug zu demselben Zwecke Gelatine vor, deren sich später P. Jensen (2, S. 558) bei seinen Beobachtungen bediente. Dieselbe Methode wandten auch die Physiologen bei Untersuchungen der Tätigkeit des Wimperapparates der Infusorien oder der Veränderung des Charakters seiner Tätigkeit unter dem Einflusse des konstanten Stromes an. K. Ludloff (3, S. 536—537) mischte einige Tropfen der Kultur mit 3 proz. Gelatinelösung mit Hilfe einer Pipette; die Gelatine mußte zuvor natürlich erwärmt werden; die erhaltene Mischung, in der man den Effekt der Wimperschläge beobachten konnte, stellte eine Gelatinelösung von 0,8—1 Proz. dar. Dieser Methode bediente ich mich gleichfalls für physiologische Zwecke bis zum Frühjahr 1902, mußte aber dieselbe aufgeben.

Ungeachtet der anscheinenden Zweckmäßigkeit bietet diese Methode nicht wenig Unbequemlichkeiten.

Es braucht nicht hervorgehoben zu werden, daß das jedesmalige Erwärmen der Gelatine bis zu einer gewissen Temperatur und das Vermischen mit den Infusorien auf dem Objektträger mit bedeutendem Zeitverlust verbunden ist, wobei das erwünschte Ziel doch nicht immer erreicht wird. Eine gleichmäßige Mischung ist überaus schwer zu erreichen; eine gleichförmige Konsistenz des Mediums wird nicht immer erhalten; es bedarf vieler Versuche, ehe man eine Konzentration

findet, in der die Bewegungen der Infusorien ruhig, verlangsamt, aber regelmäßig sind. In steifen Medien beginnen die Infusorien zu kriechen, drängen sich mit Mühe vorwärts, ihre Form bis zur Unkenntlichkeit verändernd; von einer normalen Wimpertätigkeit kann hier gar keine Rede sein.

Auch andere Forscher, die sich dieser Methode bedienten, machten auf ihre Mängel aufmerksam. K. Ludloff (3, S. 537) sagt z. B.: „Es bedarf oft sehr vieler Versuche und häufigen Probierens, ehe man die richtige Konsistenz der Lösung gefunden hat.“ In den nachfolgenden Worten sieht man einen Hinweis auf die Schwierigkeiten, eine gleichförmige Konsistenz zu erhalten: „Ist die Lösung nur um ein geringes zu steif, so schwimmen sie (die Paramaecien) nicht mehr ruhig einher, sondern wenden sich bald rechts, bald links, zucken zurück und schnellen wieder vor.“ Wenn endlich, nach vielen Versuchen, die nötige Konsistenz gefunden ist, so . . . „verleiht die geringste Veränderung der Zimmertemperatur, ja die längere Beobachtung mit dem Hohlspiegel des Mikroskops bei hellem Sonnenschein, der Lösung unter dem Deckglas eine andere Konsistenz und macht so die aufgewandte Mühe zunichte“.

d. Über den Charakter und die Richtung der Wimperbewegungen schließt man endlich nach der Bewegungsrichtung der feinsten Pulverteilchen von Tusche, Indigo, Karmin, Kohle, Lycopodium und anderer Stoffe, die man gleichmäßig in einem Tropfen mit Infusorien mischt. Die Wimpern selbst sind bei dieser Methode nicht zu sehen, man bemerkt nur die Bewegungsrichtung der suspendierten Teilchen. Es ist klar, daß rasche und kurze Veränderung der Wimperbewegung in eine entgegengesetzte leicht wahrgenommen werden können; verschiedene Wimpergruppen können die Richtung ihrer Schläge verändern, wodurch unregelmäßige Ströme in der umgebenden Flüssigkeit hervorgerufen werden; eine unerwartete starke Bewegung irgend eines Infusoriums, z. B. Spirostomum teres, stört jede Regelmäßigkeit des Stromes der suspendierten Pulverteilchen. Bei dem veränderlichen Charakter der Wimperbewegungen treten überhaupt im Tropfen verschiedene Bewegungen der suspendierten Teilchen auf.

II.

1. Da sich alle diese Methoden zum Zweck des Studiums des Entoplasma der Protisten im lebenden Zustande und ihrer Wimpertätigkeit als mangelhaft erwiesen, begann ich mich nach einer Methode, die einfacher und zugleich bequem wäre, umzusehen.

In einem großen BUNSEN'schen Glase hatte ich eine in Teichwasser gezogene Infusorienkultur, in welche ich einige Algen, abgefallene Blätter und ein Stückchen Fleisch warf. In dieses Glas wurden einige trockne Zweige von *Alga Caragaheen* gelegt, welche beim Aufquellen eine bedeutende Quantität Schleim gibt. Ich setzte voraus, daß die Alge allmählich im Wasser aufquellend, die Konsistenz der Nährflüssigkeit verändern würde. Je nach dem Aufquellen und Auflösen der Flechte wird die Konsistenz des Mediums immer steifer und die Zähigkeit der Flüssigkeit — somit auch die innere Reibung — wird verstärkt. In direkter Abhängigkeit davon werden die Bewegungen der Infusorien nach und nach regelmäßig verlangsamt und endlich erhält man die Möglichkeit ganz klar die Wimperbewegungen zu beobachten.

Meine Erwartungen wurden bald bestätigt. Indem ich täglich bei schwachen Vergrößerungen die Infusorien in diesem Glase beobachtete, bemerkte ich, daß meine Voraussetzungen sich verwirklichten. Schon mit dem dritten Tage wurden die Bewegungen der Infusorien sichtbar langsamer, und zum Ende der Woche hatte ich eine Infusorienkultur in einem schleimig-kolloidalen Medium, dem ich leicht und rasch mit einer Pipette Tropfen mit Infusorien, immer von einer bestimmten, gleichen Konsistenz der Flüssigkeit, entnehmen konnte, und in dem die Wimperbewegungen durchs Okular 4 + Objektiv D ZEISS vorzüglich beobachtet werden konnten.

Das wesentliche meiner Methode besteht folglich darin, daß ein kolloidales Medium bereitet wird, in dem die Kultur unterhalten und wenn nötig auch angelegt werden kann. Die Konsistenz dieses Mediums, sowie seine Zähigkeit, muß sehr langsam und allmählich bis zu einem gewissen Grade gesteigert werden, wobei die Bewegungen der Infusorien, hiervon abhängig, ebenso allmählich verlangsamt werden; der Charakter ihrer Bewegungen wird dadurch keineswegs verletzt, die Wimpertätigkeit bleibt normal, und das ganze Wimpertegument gewöhnt sich nach und nach mit dem Widerstande zu kämpfen, den das kolloidale Medium seiner Arbeit entgegensetzt.

2. Die nächste zu entscheidende Frage war die, welche kolloidalen Stoffe als geeignetste Medien zu diesem Zwecke erscheinen um danach die genaueste Methode für jeden Stoff im einzelnen zu erforschen.

Der Untersuchung wurden folgende Stoffe unterzogen, die wir in zwei Gruppen teilen wollen.

a. Erste Gruppe.

1. Alga Caragaheen.	9. Radix Altheae.
2. Alga Helmithochorton.	10. Radix Consolidae majoris.
3. Lichen Islandicus.	11. Gummi Tragacanthae.
4. Gummi Cerasi.	12. Semen Psyllii.
5. Gummi Arabicum.	13. Semen Cydoniae.
6. Herba Linariae.	14. Semen Lini.
7. Laminaria digitata.	15. Stipites Visci.
8. Tubera Salep.	16. Agar-Agar.

Sämtliche Stoffe dieser Gruppe werden durch die Anwesenheit von Schleimsubstanzen verschiedener Zusammensetzung charakterisiert; der Prozentgehalt des Schleimes und der Grad seiner Lösung in kaltem und heißem Wasser sind für jeden dieser Stoffe verschieden. Den Vorzug für den hervorgehobenen Zweck haben Stoffe mit größerem Schleimgehalt, der leicht und verhältnismäßig rasch in kaltem Wasser aufquillt und sich löst. Deshalb stellten sich Stoffe, die in kaltem Wasser wenig Schleim abgeben: wie Alga Helminthochorton, Lichen Islandicus, Herba Linariae, Semen Lini, Tubera Salep, als untauglich heraus. Diese Stoffe enthalten außer dem Schleim auch andere Bestandteile, von denen einige sich als giftig für die Protisten erweisen; zu den letzteren muß man Laminaria digitata, Radix Altheae, Stipites Visci, Tubera Salep und teils Lichen Islandicus und Radix Consolidae majoris zählen; bei Anwesenheit eines dieser Stoffe in der Kultur gehen die Infusorien im Laufe verhältnismäßig kurzer Zeit zugrunde.

b. Zweite Gruppe.

1. Gelatine.	3. Amylum.
2. Hühnereiweiß.	4. Dextrinum.

Die Stoffe der zweiten Gruppe quellen gleichfalls im Wasser auf; in heißem Wasser sind die Vergrößerungen des Volums besonders bemerkbar; Lösungen von verhältnismäßig kleinen Konzentrationen bilden nach dem Abkühlen eine gallertartige Masse; z. B. gibt schon 1 proz. Gelatinelösung einen Gallert. Zu diesen kolloidalen Stoffen gehört auch der käufliche Dextrin, der eine große Quantität von Stärke enthält, und die natürliche kolloidale Lösung von Hühnereiweiß. Im Eiweiße eines frischausgelassenen Hühnereies leben die Infusorien nur sehr kurze Zeit; die rasch beginnenden Zersetzungen dieses Mediums vernichten bald die Protisten. Die

Gärungsprodukte des Dextrin und der Stärke in den Kulturen, zu denen diese Stoffe in Pulver oder in aufgekochter Lösung hinzugetan werden, töten gleichfalls die Infusorien. Deshalb stellten sich Amylon, Dextrin nnd flüssiges Hühnereiweiß bezüglich einer dauernden Verlangsamnng der Infusorienbewegungen als nntauglich heraus, erwiesen sich dagegen als sehr geeignet beim Stndium der Prozesse des Stoffwechsels unter verschiedenen Umständen, sowohl normalen wie pathologischen.

3. Es erweisen sich somit von den untersuchten Stoffen der ersten Gruppe *a* als vollkommen genügend:

1. Alga Caragaheen. 3. Semen Cydoniae.
2. Semen Psyllii. 4. Gummi Tragacanthae.
5. Agar-Agar.

Als Hauptmomente des Aufquellens erscheinen hier die schleimigen Bestandteile, deshalb bezeichnen wir die Medien, welche durch Zusatz eines dieser Stoffe der ersten Gruppe zum Wasser, resp. zur Kultur, erhalten werden,

1. Als schleimig-kolloidale Medien.

b. In dem Stoffe der zweiten Gruppe — der Gelatine — quillt der Eiweißstoff. Gelatine, in Wasser gelöst, gibt ein mehr oder weniger dickes Medium, das wir

2. Protein-kolloidales Medium

nennen. —

4. Der Grad von Zähigkeit des Mediums nnd die dadurch bedingte Bildung eines kolloidalen Zustandes befindet sich natürlich in direkter Abhängigkeit von der Quantität des genommenen Stoffes der ersten oder zweiten Gruppe bezüglich eines gleichen Umfangs Wasser oder Kultnr.

a. Unter schwächstem Grad der Konzentration verstehen wir denjenigen, der beim Zusatz von minimaler Quantität eines der erwähnten Stoffe erhalten wird — Medium liqnidum. Die Beweglichkeit der Flüssigkeit und der Grad ihrer Durchsichtigkeit bleiben fast dieselben; nur eine ganz geringe Quantität der schleimigen Stoffe hat sich aufgelöst und regelmäßig in der Flüssigkeit verteilt.

b. Medium sirupoidale — wird durch das Anfquellen einer schon größeren Quantität von Schleim oder Proteinstoffen charakterisiert, infolgedessen die Flüssigkeit bedeutend dicker wird und zuweilen sich trübt; sie erinnert an die Konsistenz des Sirups nnd

die Lage ihrer Oberfläche verändert sich schon nicht so leicht, aber doch verhältnismäßig frei je nach der des Gefäßes. Diese zwei Stadien werden besonders gut, leicht und rasch aus den Stoffen der ersten Gruppe bereitet, weshalb man sie denjenigen der zweiten Gruppe entschieden vorziehen muß. Namentlich stellen sich diese Stadien in praktischer Beziehung bei biologischen Untersuchungen an den Protisten als die geeignetsten heraus.

c. Eine sehr steife Konsistenz wird beim Anfquellen bedeutender Quantitäten von Schleim- oder Proteinstoffen erreicht; die erhaltene Masse nimmt ein gallertartiges Aussehen an: es ist ein Medium kolloidale. — gallertartiges Medium. In diesem Stadium lassen sich zwei Zustände unterscheiden: α) wenn das Medium eine sehr steife, zitternde, gallertartige, fließende Masse bildet, die sehr langsam aber dennoch eine horizontale Oberfläche bei Veränderung der Lage des Gefäßes annimmt, und β) eine nichtfließende Masse, die zu einem kompakten, elastischen Körper erstarrt.

III.

1. Schleimig-kolloidale Medien.

Ich gehe nun zu genauer Beschreibung der Methoden der Bereitung von schleimig-kolloidalen Medien und zur Charakteristik jedes einzelnen Stoffes über. Die Grundmethoden des Gebrauches dieser Medien zum Zwecke einer Verlangsamung der Bewegung der Infusorien, die für alle erwähnten Stoffe gleich sind, mögen bloß bei der Beschreibung der Bereitung der Medien aus Alga Caragaheen erklärt werden.

1. Alga Caragaheen.

In kaltem Wasser quillt Lichen Caragaheen auf, wird schleimig-glatt und bekommt zuletzt ein gallertartiges Aussehen: beim Kochen (1:20) löst sich jedoch der größte Teil auf und bildet nach dem Erkalten der Abkochung einen trüben schleimfarbigen Gallert. Einige Stückchen dieser Alge werden vor dem Gebrauche leicht in einer 0,5—1,0 proz. Lösung von kohlensauren Natron durchgewaschen und in die Infusorienkultur gebracht, oder es wird ein nach dem Erkalten erstarrendes Dekokt bereitet (1,0—3,0 auf 200,0 Wasser), welches noch warm zur Kultur bei sorgfältigem Umrühren hinzugetan wird. Die erste Methode ist vorzuziehen.

a. Die Verlangsamung der Bewegungen der Infusorien kann in der ganzen Kultur hervorgerufen werden. Zu diesem Zwecke ver-

senkt man unmittelbar auf den Boden des Gefäßes die in kohlensaurem Natron ausgewaschenen Zweige des Alga Caragaheen oder anderer Stoffe.

Das allmähliche Anwachsen des schleimigen Stoffes in der Lösung gibt die Möglichkeit die Zähigkeit des flüssigen Mediums, Medium liquidum, zu erreichen. Die Moosstückchen werden am 4.—5. Tage oder auch früher entfernt, was davon abhängt, welchen Grad der Dichtheit man wünscht, resp. vom Grade der Verlangsamung der Geschwindigkeit, mit der Infusorien sich bewegen. Zuweilen ist dieses sogar notwendig, denn gewöhnlich beginnt vom 5. Tage an die Zersetzung der schleimigen Stoffe und es entsteht eine schleimige Säure nebst einigen anderen Stoffen, welche toxisch auf die Wasserbewohner[1]) wirken, und demzufolge geht die Kultur rasch zugrunde.

Der schädliche Einfluß der Zerlegungsprodukte wird durch Neutralisation der Kultur mit einigen ccm 1 proz. kohlensaurem Natron, das mit Hilfe einer Pipette auf den Boden des Gefäßes gebracht wird, verhindert.

b. Diese Methode des unmittelbaren Zusatzes der schleimig-kolloidalen Kulturen stellt sich bei folgender Modifikation als beste heraus. Al. Caragaheen wird in einem gut durchgewaschenen, weichen Marlensäckchen in die Kultur hinuntergelassen, dabei erhält man ein von allen fremden Beimischungen freies Medium, was von wichtiger Bedeutung in den Fällen ist, wo es auf die Reinheit der Kultur ankommt. Der schleimige Stoff diffundiert dabei äußerst langsam in das Wasser, man nimmt 6—8 Mooszweige (ungefähr 4—6 g) auf 100 ccm Kultur. Das Säckchen wird an den Pfropfen des Gefäßes angehängt; man kann dasselbe immer bequem herausnehmen, sorgfältig durchwaschen, und die alten Algen durch neue ersetzen zuvor, ist die Kultur jedesmal mit kohlensaurem Natron zu neutralisieren.

Schon am dritten Tage werden die Bewegungen der Infusorien ziemlich langsam und auf diesem Konsistenzgrad, wenn das schleimige Medium eine Flüssigkeit bildet, kann man zeitweise mit dem weiteren Zufügen neuer Algenzweige einhalten.

c. Mit einer Kultur von solcher Konzentration kann man die Protisten auch in steiferen Medien beobachten, zu welchem Zwecke

[1]) Die Zerlegung des Algae Caragaheen wirkt nicht nur auf die Protisten toxisch, sondern auch auf die Froschlarven im Alter von 3—6 Wochen; die letzteren gehen in einem Gefäß, in das einige Caragaheenzweige hineingeworfen werden, binnen 7—9 Tagen zugrunde.

man folgenderweise verfährt. Man läßt einige Tropfen der schleimigen Kultur langsam und allmählich in einem Uhrglase oder auf dem Objektträger etwas trocknen; die Konsistenz des Mediums wird nach und nach steifer und dementsprechend werden die Bewegungen der Infusorien stark verlangsamt. Je nach Bedarf kann man eine solche Dichte erreichen, in daß Infusorien sich mit Mühe vorwärts drängen, sich bald nach dieser, bald nach jener Seite wendend, ihren Körper biegen, dabei energisch mit den Wimpern arbeiten, deren Bewegungen mit erstaunlicher Deutlichkeit zu sehen sind; jedoch kann ihr Spiel auch bei weniger steifen Konzentrationen vortrefflich gesehen und untersucht werden.

Umgekehrt, kann in einem Uhrglase durch Zusatz zur Kultur einiger Tropfen gewöhnlichen Wassers sofort die Verdünnung des Mediums und die Vergrößerung der Bewegungsgeschwindigkeit der Infusorien hervorgerufen werden.

Auf diese Weise können die Kulturen in Medien sehr schwacher Konsistenz als beständige Quelle zum Erhalten des Materials und zur Beobachtung der Protisten in verschiedenen Konzentrationen dienen. Wenn man ein Uhrglas mit einer solchen Kultur von gewisser Konzentration in eine feuchte Kammer bringt, um die fernere Verdickung zu hindern, so ist dasselbe Material am zweiten und dritten Tage zu Untersuchungen zu gebrauchen.

Gelegentlich möchte ich erwähnen, daß die Methode der schleimigen Kulturen in Uhrgläsern zum Studium der Nahrungsprozesse sehr geeignet ist und daß diese Methode unersetzliche Dienste beim Beobachten des Einflusses verschiedener chemischer Stoffe, insbesondere bei den Demonstrationen des positiven und negativen Chemotropismus, leistet.

Die eben beschriebene Methode des unmittelbaren Zusatzes der schleimigen Stoffe zur ganzen Kulturmasse hat jedoch wesentliche Nachteile. Obgleich die Bewegungen der Infusorien in solchem Medium dem Charakter nach vollkommen normal und frei sind, erscheinen sie um Bedeutendes verlangsamt, infolgedessen die Nahrungsprozesse einigermaßen geschwächt werden; nichtsdestoweniger, können die Paramaecien, in einer sich selbst überlassenen schleimigen Kultur (nach der Entfernung der Al. Caragaheenzweige am fünften bis achten Tage) ziemlich lange leben, wenngleich die atrophischen Prozesse früher eintreten und intensiver vor sich gehen, als in einer gewöhnlichen Wasser- oder Sumpfkultur. Am Ende der 4.—6.—8. Woche, je nach dem Konzentrationsgrade des schleimigen Stoffes, verschwinden fast alle Paramaecien und es bleiben nur einzelne Exemplare übrig;

sie werden durch Colpidium Colpoda und Colpoda cucullus ersetzt; die letzteren vermehren sich in ungeheueren Quantitäten und können ungemein lange, sogar in sehr steifen Medien leben, wenn deren Bestandteile kein Gift enthalten.

Die Mängel sind jedoch leicht zu beseitigen; es bedarf nur einer sorgfältigen Behandlung der Kultur. Um die Degeneration der Paramaecien aufzuhalten, wandte ich die Methode der nacheinanderfolgenden Durchspülungen an. Am Ende der dritten oder vierten Woche spült man die Kultur mit frischem Wasser durch, wobei zu beobachten ist, daß die Höhe der Flüssigkeit im Gefäß die gleiche bleibt. Bald nach dem Durchspülen beginnen die Protisten sich rasch zu bewegen und es bessern sich ihre Nahrungsbedingungen. Die an der Oberfläche des Wassers im Gefäß angehäuften Paramaecien beginnen sich im Laufe einiger Tage intensiv, ausschließlich durch Querteilung, zu vermehren, was auch nach dem Durchspülen einer gewöhnlichen Kultur stattfindet (s. oben).

Am dritten Tage werden nach sorgfältiger Durchspülung auf den Boden des Gefäßes wieder einige Caragaheenzweige oder ein anderer schleimiger Stoff gebracht; der schleimige Stoff beginnt von neuem allmählich aufzuquellen und diffundiert nach und nach in die Flüssigkeit des Gefäßes; nach fünf bis zehn Tagen werden die Zweige von neuem entfernt und nach drei bis vier Wochen wird die Kultur zum zweiten Mal durchgespült. Auf diese Weise belebt, lebten bei mir Paramaecien in einer ziemlich dichten Lösung von Lichen Caragaheen fünf Monate lang. Diese Kultur wurde von mir den 14. November 1902 in einer Sitzung der Zoologisch. Abteilung der Kais. Gesellschaft von Fr. d. Naturwissensch., d. Anthrop. u. Ethnog. (Moskau) demonstriert. Die Protisten lebten im schleimigen Medium dieser Kultur gegen sieben Wochen; im Laufe der folgenden Monate wurde die Querteilung in derselben Kultur von dem Botaniker Priv. Doz. Krascheninnikoff, dem Zoologen Magnizky und vielen anderen, die sich in unserem Institut beschäftigen, beobachtet.

d. Es ist nicht immer durchaus notwendig die Bewegung der Infusorien in der ganzen Kultur zu verlangsamen; die Methode des unmittelbaren Zusatzes der schleimigen Stoffe zur Massenverlangsamung der Protisten wird nur bei ausschließlichen Fällen angewandt, und verlangt eine spezielle Behandlung der Kultur, sonst geht sie leicht zugrunde. Die Befürchtung, das kostbare Material zu verlieren, nötigt uns eine andere Methode zu gewöhnlichen Beobachtungen und Experimenten anzuwenden, welche sich besonders dann, wenn man einiger Objekte in ziemlich steifen Medien

bedarf, in dem Medium sirnpoidale und kolloidale, wo die Degeneration der Protisten sehr rasch vor sich geht, als sehr zweckmäßig herausstellt.

Ein oder zwei kleine Caragaheenzweige ausgewaschen, wie gesagt, in einer 0,5—1,0 proz. kohlensanrem Natronslösung, werden mit Hilfe eines Glasstäbchens auf den Boden eines niedrigen und breiten Probiergläschens niedergelassen, wonach sofort 5—8 ccm einer gewöhnlichen Wasserkultnr mit möglichst großer Quantität von Tierchen hinzugegossen werden. Breite Probiergläschen mit einem Glasfuß werden dabei bevorzugt; solche Probiergläschen sind sehr bequem beim Demonstrieren, da sie aufrecht gestellt werden können. Schon nach einigen Stunden (zuweilen sogar nach $^1/_2$—1—2 Stunden, noch besser am anderen Tage) bildet sich eine fast unfließbare gallertartige Masse, in der die Protisten sich auffallend langsam bewegen. Nimmt man ein sehr kleines Stückchen Alge, so sind die Bewegungen nur wenig verlangsamt.

Der Grad der Verlangsamung der Fortschreitnngsbewegungen hängt natürlich von der Quantität des genommenen schleimigen Stoffes ab; diese Methode gibt die Möglichkeit auf einmal mehrere Probiergläschen mit verschiedenem Prozentgehalt des schleimigen Stoffes, resp. mit verschiedenen Verlangsamungsgraden der Ortsveränderungsgeschwindigkeit der Infusorien, zu bereiten [1]), ohne befürchten zu müssen die Kultur zu verlieren. Im Laufe von vier bis acht Tagen unterliegen die Protisten sogar in sehr steifen Medien keiner Veränderungen weder in morphologischer, noch in physiologischer Beziehung (der Charakter und der Grad der Reaktion auf verschiedene Reize bleiben dieselben) und erscheinen während dieser Zeit für biologische Untersuchungen über normale Protisten sehr geeignet.

2. *Semen Psyllii.*

Diese Samen geben beim Kochen 1 : 200 eine schleimige Flüssigkeit; der schleimige Stoff quillt im kalten Wasser äußerst langsam auf und gibt eine erstaunlich zarte, vollständig durchsichtige schleimige

[1]) In einer Sitzung der Zoologischen Abteilung der Kais. Ges. von Freunden d. Naturw., Anthrop. und Ethnogr. wurde von mir den 14. November 1902 eine ganze Reihe Probiergläschen mit vitalgefärbten Paramaecien demonstriert, deren Bewegungen durch verschiedene Stoffe: *Alga Caragaheen, Semen Psyllii, Semen Cydoniae, Gummi Tragacanthae, Gummi Cerasi* vorzüglich verlangsamt waren. Die Bewegungen der Protisten wurden durch Handlupen und durch das Mikroskop mit Objekt D und F Zeiss beobachtet.

Flüssigkeit, welche vorzüglich die Bewegungen der Protisten verlangsamt. Infolge dieser guten Eigenschaft muß das Semen Psyllii besonders in den Fällen empfohlen werden, wenn man eines guten flüssigen, schleimigen Mediums bedarf. Die Bewegungsgeschwindigkeit der Protisten wird ziemlich bedeutend verlangsamt, wobei der Charakter der Bewegungen unverändert bleibt. Es ist von Nutzen zur Beschleunigung des Aufquellens der schleimigen Bestandteile die Flüssigkeit leicht zu erwärmen; dadurch kann man eine steifere Konsistenz, Medium sirupoidale, erhalten.

Die beste Gebrauchsart dieses Stoffes ist die oben beschriebene Methode der schleimigen Medien in Probiergläschen. Auf den Boden eines breiten Probiergläschens, streut man Semen Psyllii 1—2 cm hoch, worauf 5—8—10 ccm Kultur mit einem reichlichen Protistengehalt hineingebracht wird.

Bei den Paramaecien beobachtet man ein sehr interessantes Verhalten zu diesem Samen. Alle Paramaecien häufen sich bald in den niederen Teilen der Flüssigkeit an der freien Oberfläche der durch Semen Psyllii gebildeten Säule. Es entsteht sozusagen ein *positiver Psylotropismus*, der vielleicht, durch das Ausscheiden des Sauerstoffs bei der Auflösung der Bestandteile oder durch den Einfluß einiger aufgelösten Bestandteile auf die Paramaecien, die in diesem Falle positiv chemotropisch wirken, hervorgerufen ist. Es ist bemerkenswert, daß diese Erscheinung zuweilen gegen 24 Stunden dauert und daß die Infusorien sich in den Teilen anhäufen, wo die Dichte des schleimigen, in die Flüssigkeit diffundierenden, Stoffes die größte ist, d. h. wo die Bedingungen der Bewegung am wenigsten günstig sind. Erst am zweiten und dritten Tage heben sich die Protisten an die Oberfläche der Flüssigkeit und besetzen ringförmig die innere Seite des Probiergläschens.

3. *Semen Cydoniae.*

Quittensamen geben, im Wasser aufquellend, eine große Quantität Schleim; so gibt 1 Teil auf 50 Teile Wasser eine schöne, steife, mobile, schleimige Masse. Das Aufquellen geht ziemlich rasch schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur vor sich, daher sind diese Samen zur raschen Verlangsamung der Bewegungen der Protisten sehr geeignet. Sie können unmittelbar in einem Säckchen in die Kultur gebracht werden, aber besser ist es die Verlangsamung der Protisten in Probiergläschen auszuführen. 5—8 cm. Kultur mit Infusorien werden in ein Probiergläschen hineingetan, auf dessen

Boden 2—5 Samenkapseln zuvor geworfen sind, zerschnitten in kleine Teile, wodurch das Aufquellen der schleimigen Stoffe beschleunigt wird. Nimmt man eine größere Quantität Semen, so erhält man rasch ein gleichmäßiges schleimiges Medium von sehr steifer Konsistenz (Medium colloidale). Dieselben sind zum Zwecke einer raschen und bedeutenden Verlangsamung der Bewegungen der Protisten sehr geeignet.

4. *Gummi Tragacanthae.*

Tragakanth stellt einen sehr stark im Wasser aufquellenden Stoff vor, welcher eine große Quantität dicken Schleimes liefert; so gibt z. B. 1 Teil Tragacanth auf 50 Teile Wasser beim Aufquellen einen dicken, trüben Schleim. Im kalten Wasser geht das Aufquellen der harten Stückchen nicht immer gleichmäßig vor sich; 1 : 200 kalten Wassers löst sich beim Schütteln während längerer Zeit und gibt einen durchsichtigen Schleim. Er kann in Stücken oder in Pulver gebraucht werden; beides wird in einer sehr unbedeutenden Quantität auf den Boden eines Probiergläschens gebracht (gegen 0,2—0,5 g). In Fällen, wo es um ein dickes, fast unfließbares Medium ankommt, das die Bewegungen der Protisten in bedeutendem Grade verlangsamt, und welches rasch bereitet werden muß, erweist sich Tragakanth äußerst brauchbar.

5. *Gummi Cerasi.*

Kirschgummi quillt äußerst langsam bei gewöhnlicher Kulturtemperatur auf; eine gute, Gallert gebende Masse, entsteht beim Erwärmen und Umrühren. Da er in dieser Beziehung dem Prinzip des langsamen Anwachsens des colloidalen Stoffes im Wasser nicht entspricht, steht dieser Stoff im Verlangsamen der Bewegungen der Protisten den oben beschriebenen bedeutend nach. Dasselbe muß auch von *Gummi arabicum* gesagt werden.

6. *Agar-Agar* (Tjien-Tjien)

quillt bedeutend auf beim Erwärmen mit Wasser; schon 1 : 100 Teile Wasser bildet nach dem Abkühlen eine ziemlich feste gallertartige Masse. Im kalten Wasser jedoch geht das Aufquellen äußerst langsam und sehr unbedeutend vor sich. Daher ist dieser Stoff für isolierte Kulturen in hohen und schmalen Gläsern (in Diam. gegen 6—10 cm) sehr geeignet; man bringt in dieselben einige Plättchen Agar-Agar (gegen 3—7 g) in Stangen von 8—10 cm Länge zer-

schnitten, hinein, gießt 100—200 ccm Wasser darauf, fügt kohlensaures Natron und phosphorsaures Calcium hinzu und verkorkt das Glas. Am zweiten oder dritten Tage bringt man in dasselbe mit Hilfe einer Pipette die entsprechende isolierte Gattung der Protisten. Nach einigen Tagen erhält man eine reine Kultur. 3—6 Wochen lang stellt die Kultur nur ein flüssiges Medium vor, und erst nach dieser Zeit beginnt der Übergang in den zweiten Konsistenzgrad. Im Laufe von 3—4 Monaten ist die Flüssigkeit leicht beweglich und die Bewegungen der Protisten sind verhältnismäßig wenig verlangsamt.

7. In diesen Medien werden die Nahrungs-, Wachstums- und Vermehrungsprozesse bedeutend schwächer, infolgedessen eine ganze Reihe regressiver Zerrüttungen beobachtet wird, welche die Kultur bald zur vollständigen Vernichtung bringen.

Die Bilder der morphologischen Veränderungen sind, nach meinen Beobachtungen, in verschiedenen schleimig colloidalen Medien verschieden und hängen natürlich von den chemischen Bestandteilen dieser Medien ab. Folglich geben die schleimigen Medien die Möglichkeit, experimental die Bedingungen der Assimilation der Nahrungsstoffe zu verändern, die Autointoxikationsprozesse zu untersuchen usw. Die von mir in dieser Beziehung erhaltenen Resultate werden der Gegenstand meiner nächstfolgenden Arbeiten sein, dagegen möchte ich gleich hier hervorheben, daß, obwohl mein Hauptziel nur die Beschreibung dieser Medien als neue Methode zur Beobachtung der Bewegungen der Protisten ist, die schleimigen Medien zugleich auch als neue Methode zur Untersuchung der chemischen Prozesse bei den lebendigen einzelligen Wesen zu betrachten sind.

2. *Protein-kolloidale Medien.*

1. *Gelatine.*

Durchsichtige weiße Gelatine, sorgfältig im Wasser ausgewaschen, quillt gleich dem Agar-Agar nur im heißen Wasser auf; nach dem Erstarren schon einer 1 proz. Lösung erhält man eine ziemlich feste gallertartige Masse; in kaltem Wasser quillt und löst sich Gelatine sehr schlecht und langsam.

Aus diesem Grunde erweisen sich sowohl Agar-Agar als Gelatine zur Methode der Bereitung von Medien in Probiergläschen, wenn eine steife Konsistenz in kaltem Wasser unter allmählicher Erhöhung der Konzentration verhältnismäßig rasch erhalten werden soll, als

unbrauchbar; beim Zusatz dieser Stoffe erhält man nur mit Mühe den zweiten Konsistenzgrad, da sie in ganz unbedeutender Quantität schon eine gallertartige, wenig mobile Masse geben, welche in die Pipette, mit der die Infusorien genommen werden, nicht zu bringen ist. Dieser Umstand, d. h. die Bildung einer wenig mobilen, nichtfließenden und verhältnismäßig festen, erstarrenden Masse, läßt Agar-Agar und Gelatine nicht ganz zweckentsprechend erscheinen.

Nichtsdestoweniger gibt auch Gelatine in kaltem Wasser ganze Wochen lang eine Konsistenz des Medium liuquidum und später sirupoidale, in welchen die Kulturen ausgezeichnet fortleben. Eine reine Kultur von Lacrymaria olor lebte bei mir $5\frac{1}{2}$ Monate in einem solchen Medium, wonach ihre Behandlung aufgehoben wurde.[1])

Deshalb kann Gelatine für spezielle isolierte Kulturen reiner Infusoriengattungen empfohlen werden. Man legt auf dem Boden eines engen Glases 2,0—3,0 Gelatine und 100—200 ccm Wasser hinzu; am dritten Tage bringt man die Infusorien in dieses Medium. Die Kultur wird von Zeit zu Zeit leicht mit kohlensaurem Natron alkalisiert.

IV.

1. Das Grundprinzip meiner Methode der Verlangsamung der Bewegungsgeschwindigkeit der Protisten besteht in langsamer, allmählicher und gleichmässiger Vergrößerung der Mediumszähigkeit infolge Aufquellens und Lösung kolloidaler Stoffe.

2. Diesem Prinzip entsprechen am besten die *schleimig-kolloidalen Medien*, da sie leicht Medien verschiedener Konsistenzgrade geben.

3. Für biologische Untersuchungen über Protisten sind drei Konsistenzgrade notwendig: Medium liquidum, sirupoidale et colloidale.

4. Aus den diese Medien bildenden Stoffen muß an erster Stelle *Semen Psyllii* genannt werden, dessen Samen ein außerordentlich durchsichtiges und zartes Medium geben. Hiernach folgt *Alga Caragaheen*, deren schleimige Stoffe beim Aufquellen leicht alle drei Konsistenzgrade geben, weshalb A. Caragaheen für

[1]) Von dieser Kultur erwähnte ich schon in meiner Arbeit: „Über die Wirkung der Induktionsschläge auf einige Ciliata". Phys. Russe 12 Janvier 1903 Nr. 41—45 p. 31. Nachher lebte Lacrymaria olor noch 3 Monate in diesem Medium.

sehr viele Beobachtungen unter verschiedensten Versuchsbedingungen geeignet ist; *Semen Cydoniae* und schließlich *Gummi Tragacanthae* dienen als vortreffliches Material zur schnellen Bereitung verhältnismäßig steifer Konsistenzen, Medium colloidale, in welchem die Bewegungen der Protisten äußerst verlangsamt, aber dem Charakter nach ganz normal sind, wie auch überhaupt in allen schleimig-kolloidalen Medien.

1. E. Stahl: Zur Biologie der Myxomyceten. Bot. Zeitung 1884.
2. P. Jensen: Methode der Beobachtung und Vivisektion von Infusorien in Gelatinelösung. Biol. Zentralbl. Bd. XII.
3. K. Ludloff: Untersuchungen über den Galvanotaxis. Arch. f. ges. Physiol. Bd. 59.

Recherches sur la structure et l'appareil nucléaire des Trypanosomes

(à propos d'un trypanosome observé chez le lapin).

Par

F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

(Avec 68 figures dans le texte.)[1]

Les trypanosomes du lapin n'ont pas été étudiés, à notre connaissance tout au moins. Quelques auteurs comme Jolyet, Laveran signalent seulement leur existence.

Au cours de recherches sur le sang du lapin normal, nous avons trouvé dans le sang d'un lapin vigoureux, le trypanosome qui fait l'objet de ce travail. Ce lapin, sur douze achetés le matin même au marché de Montpellier, fut le seul à présenter des trypanosomes. Chaque gouttelette de sang prise à la veine marginale de l'oreille renfermait 3 à 4 parasites par champ de microscope. Or malgré la quantité de sang inoculé, nous n'avons pas réussi à transmettre l'infection à des animaux neufs. Le sang, rendu incoagulable par aspiration dans une seringue contenant de l'extrait de sangsue, fut inoculé à des doses de deux à cinq centi-cubes, sous la peau, dans le péritoine et dans les veines de 4 lapins et sous la peau et dans le péritoine de cobayes et de rats blancs. Chez les cobayes et les rats, le résultat fut complètement négatif, de même que chez trois lapins; chez le quatrième lapin, inoculé, à la fois dans le péritoine et dans les veines, les trypanosomes apparurent dans le sang mais seulement en très petit nombre et disparurent vers le 11e jour d'une façon définitive. Nous nous proposions de faire une nouvelle

[1]) cf. les trois chlichés p 69—71.

série d'inoculations lorsque, par mégarde, notre lapin fut pris comme animal neuf pour une expérience et reçut une inoculation virulente qui le tua rapidement. Nous avons ainsi perdu notre trypanosome. Heureusement, pendant la vie de l'animal, nous avions appliqué à l'étude du parasite des procédés de fixation et de coloration variés et réussi à mettre en évidence des détails de structure que nous aurons à exposer.

Étude à l'état frais.

Nous n'avons pas pu étudier, comme nous l'avions projeté, notre trypanosome à l'état frais, en particulier en goutte pendante. Dans une goutte de sang prise au sortir de la veine et recouverte d'une lamelle, on peut suivre pendant longtemps les mouvements du parasite; lorsqu'on mélange une goutte de sang à une gouttelette d'extrait de sangsue, les mouvements peuvent être observés pendant plusieurs heures. Le parasite se meut vivement, en ligne droite, traversant rapidement le champ du microscope, par des mouvements d'ondulation vifs de sa membrane et de son flagelle qui déplacent vigoureusement les globules rouges. Lorsque les hématies forment par leur amas, un obstacle plus considérable, les trypanosomes se détendent en coup de fouet après contraction énergique non seulement du flagelle mais de tout le corps; parfois ils présentent un mouvement de giration très rapide avant de repartir droit devant eux. Au moment où la vitalité du trypanosome se ralentit, les mouvements d'ondulation du flagelle et de la membrane deviennent plus apparents et l'on constate des phénomènes de contraction simultanée de la membrane incolore et de la masse protoplasmique sombre et granuleuse. Le parasite n'avance plus qu'avec hésitation, par ondulations lentes, le flagelle tâtant les obstacles et s'éloignant d'eux.

Étude du trypanosome après fixation et coloration.

Technique. Le sang étalé en couche très mince et rapidement desséché à l'air a été fixé par le mélange, à parties égales, d'éther sulfurique et d'alcool absolu, par l'alcool absolu, la liqueur forte de Flemming. A la suite de ces fixations, nous avons employé comme méthodes de coloration: le triacide d'Ehrlich pur appliqué, pendant quelques secondes à cinq minutes; la thionine phéniquée; le bleu de méthylène suivi d'éosine; le bleu polychrome de Unna; l'hématéïne suivie d'éosine ou de van Gieson; l'hématoxyline ferrique suivie de van Gieson; la méthode de Romanowski et enfin la méthode de Laveran. Ces procédés sont tous susceptibles de fournir des renseignements utiles, mais la plupart ne peuvent être utilisés que pour la recherche rapide des trypanosomes, tels la thionine, le bleu polychrome, l'hématéïne-éosine. Le triacide d'Ehrlich, l'hématoxyline ferrique, les

méthodes de Romanowski et de Laveran constituent des méthodes d'étude. La coloration par le triacide est très inconstante et ses différenciations, pour les diverses parties du trypanosome, ne sont pas suffisamment précises. Il est également difficile d'avoir de très bons résultats avec l'hématoxyline ferrique, à cause de l'impossibilité de suivre l'opération au microscope, pour des objets aussi petits. La méthode de Romanowski est des plus profitables, mais le procédé appliqué par Laveran à l'étude des hématozoaires est certainement bien supérieur à tous les autres.

En apportant quelques modifications à la méthode de Laveran, en cequi concerne la durée de ses différents temps, nous avons obtenu des préparations dans lesquelles les trypanosomes sont parfaitement colorés avec des différenciations extrêmement délicates qui mettent en relief de très fins détails de structure.

Voici la technique que nous avons suivie: étalement du sang en couche mince et très égale; dessication rapide par agitation à l'air; fixation dans l'alcool absolu pendant 24 heures; coloration pendant 45 minutes, dans la solution colorante préparée au moment même; après lavage à l'eau distillée, faire agir pendant cinq minutes la solution de tannin à 5%; laver soigneusement à l'eau distillée: sécher et examiner directement.

Tontes les préparations sont loin d'être également réussies, mais nous en avons obtenu de parfaites qui ont pu être étudiées à de très forts grossissements et qui nous ont permis de résoudre des structures délicates.

I.

Morphologie et structure.

A. *Description générale et mensuration.* Notre trypanosome mesure de 26 à 28 et jusqu'à 30 μ de longueur, de l'extrêmité du bec à l'extrêmité du flagelle. Sa largeur moyenne y compris la membrane ondulante bien étalée est de 2 μ 5; elle peut atteindre 3 μ et dans ce cas il y a augmentation de volume à la fois de l'endoplasme et de la membrane ondulante.

Il est difficile d'étudier la forme précise du parasite à l'état frais. Après fixation et coloration, il se présente avec un bord légèrement concave, le bord opposé convexe étant limité par une membrane ondulante bien développée. L'extrêmité postérieure a la forme d'un bec effilé légèrement incurvé portant à sa base un étranglement qui ne se marque le plus souvent que du côté du bord convexe, au point de pénétration du flagelle. Le parasite, y compris sa membrane ondulante, s'effile à mesure que l'on va vers son extrêmité antérieure qui se termine en forme de filament. Le flagelle parti de la base du bec, suit le bord libre de la membrane ondulante et

paraît être complètement libre snr une assez grande longueur; mais en réalité le flagelle est supporté jusqu'à son extrémité par la membrane ondulante qui s'amincit de plus en plus; si, à un moment donné, il est réellement libre ce n'est que sur une petite étendue.

Si l'on ne tient pas compte de la membrane ondulante, ni du bec, le parasite est formé par une masse protoplasmique fusiforme qui présente, vers l'extrémité postérieure, un corpuscule très coloré appelé „geisselwurzel", nucléole, centrosome, et, vers l'extrémité antérieure, une masse volumineuse ayant les apparences d'un gros noyau.

La détermination des extrêmités en antérieure et postérieure nous paraît assez arbitraire. On a donné le nom d'antérieure à celle qui se termine par le flagelle libre, par ce que, en général, les trypanosomes se déplacent le flagelle en avant. Mais ce n'est pas là un fait constant et divers auteurs ont noté, et nous l'avons vérifié, que les trypanosomes peuvent progresser du côté du bec. Chez les flagellés, en général, le flagelle est implanté dans le pôle qui renferme le geisselwurzel, de sorte que le déplacement se fait dans le sens de l'extrémité qui porte à la fois le geisselwurzel et le filament libre. Chez les trypanosomes, le flagelle, au lieu de se libérer rapidement à l'extrémité qui porte le geisselwurzel, s'accole, à sa sortie du cytoplasme, au bord libre de la membrane ondulante pour se terminer à l'extrémité opposée à son point d'insertion. On devrait dès lors considérer le bec comme l'extrêmité antérieure.

B. *Protoplasma.* Le corps du trypanosome, après coloration par la méthode de Laveran, est formé de deux parties bien différenciées: l'une, l'endoplasme, colorée en bleu de ciel foncé; l'autre, l'ectoplasme, à peu près incolore et constituée dans sa plus grande étendue par la membrane ondulante.

1° Endoplasme. Cette partie du cytoplasme qui est colorée en bleu par le Romanowski, en bleu clair par le bleu polychrome de Unna, en gris par l'hématoxyline ferrique et en bleu de ciel par la méthode de Laveran, présente une forme en fuseau (fig. 5, 14, 39) à limites nettes. L'un des bords se confond avec le bord légèrement concave du trypanosome; le bord opposé dessine une ligne convexe qui constitue comme la ligne basale de la membrane ondulante (fig. 1, 14, 2). Ce dernier bord peut présenter des ondulations ou des déformations (fig. 1, 2, 10, 43, 64) superposables à celles du bord libre de la membrane ondulante. Ces modifications de l'endoplasme vérifient les observations de Plimmer et Bradford (T. Brucei) et de Rabinowitsch et Kempner (T. des rats) d'après lesquelles, à l'état frais, la membrane ondulante ondulerait synchroniquement

avec les contractions du protoplasma. Vers l'extrémité postérieure, l'endoplasme vient au contact de la zône claire qui entoure le corps centrosomique, puis, au delà de ce dernier, se continue dans la partie centrale du bec; vers l'extrémité antérieure, l'endoplasme, après avoir entouré le noyau, s'amincit rapidement dans la partie effilée de la membrane ondulante, en suivant le bord opposé au flagelle.

L'endoplasme n'a pas une structure homogène. Plimmer et Bradford avaient noté, en rapport avec la structure alvéolaire indiquée par Bütschli, que certaines parties étaient peu ou point colorées. La structure alvéolaire nous a paru être le plus souvent en rapport avec une fixation défectueuse. Dans les préparations bien réussies, l'endoplasme présente une structure parfois finement granuleuse mais le plus souvent formée de stries longitudinales parallèles déjà notées par Laveran et Mesnil (T. Soleæ). L'aspect granuleux ou strié est surtout prononcé dans la partie la plus épaisse du fuseau; dans le bec, l'endoplasme homogène et peu coloré se confond avec l'ectoplasme; il en est de même dans l'extrémité antérieure, à partir du pôle antérieur du noyau. Nous avons observé, dans un cas, une structure canaliculée de l'endoplasme (fig. 34).

Chez les parasites en voie de division, l'endoplasme augmente de volume: parfois il se gonfle, prend un aspect hydropique avec une structure plus nettement filamenteuse mais très lâche (fig. 10, 41). Son bord concave ordinairement confondu avec le bord ectoplastique s'en sépare parfois et il se forme une zône claire périphérique (ectoplasme) plus ou moins large (fig. 5, 38, 53). L'épaisseur de l'endoplasme peut se réduire encore: le fuseau d'endoplasme peut s'effiler brusquement en avant du gros noyau, ou bien déjà à partir de son milieu et former ainsi un étirement ondulé qui vient se fixer au pôle postérieur du noyau (fig. 8, 14); l'endoplasme peut encore s'effiler très vite, à peu de distance du centrosome et former ainsi une sorte de filament flexueux qui s'attache au pôle postérieur du gros noyau (fig. 25). Les rapports de l'endoplasme et du noyau sont, dès lors, des plus variables: le noyau est tantôt enfermé dans une couche plus ou moins épaisse d'endoplasme, tantôt libre à moitié, tantôt complétement en dehors du fuseau endoplasmatique dont l'extrémité effilée touche simplement son pôle postérieur. Dans des cas plus rares, l'endoplasme peut se raréfier par places: il présente des parties incolores (fig. 7) ou est constitué par 3 à 4 masses séparées, inégales, à bords effilochés, parfois d'aspect nuageux (fig. 36, 58); il peut même se produire une disparition totale de l'endoplasme (fig. 37). Dans plusieurs cas, enfin, nous avons vu l'endoplasme se

diviser en 2 parties cylindriques à peu près égales, séparées par un espace clair, l'une appendue à la région centrosomique, l'autre au gros noyau (fig. 31). Certaines parties de l'endoplasme peuvent présenter une coloration fortement violacée; ce phénomène qui est surtout sensible au voisinage du noyau, autour de sphères chromatiques isolées, est en rapport avec la diffusion de la substance chromatique dans le cytoplasme (chromatine diffusée).

2° Ectoplasme. L'ectoplasme représente une différenciation de la partie superficielle du cytoplasme, mais il ne s'agit point d'une membrane; aussi pour éviter toute confusion éviterons nous d'employer le mot de périplaste créé par Klebs et qui est trop en rapport avec l'idée de cuticule ou de capsule. Ce que nous avons dit au sujet des modifications de l'endoplasme nous a montré que toute la périphérie du parasite est formée par une substance claire, réfringente, incolore qui s'élargit pour constituer la membrane ondulante. La séparation entre l'endoplasme et l'ectoplasme est toute virtuelle: à l'état frais, l'ectoplasme se différencie, par son aspect clair, de l'endoplasme qui forme une masse plus sombre; après coloration, l'endoplasme coloré en bleu présente une limite assez précise, mais nous avons noté que cet endoplasme devient de plus en plus homogène et se confond progressivement avec l'ectoplasme, à mesure que l'on va vers les extrêmités. En outre, les observations du trypanosome vivant montrent que ce n'est pas seulement la membrane ondulante, mais l'endoplasme et toute la partie périphérique ectoplastique qui se contractent synergiquement.

L'ectoplasme à son extrêmité postérieure s'effile en forme de bec long, aigu et recourbé, avec, sur le bord convexe, au point de pénétration du flagelle, un étranglement plus ou moins marqué; cet étranglement peut être très apparent sur le bord concave et l'on peut constater plusieurs étranglements successifs (fig. 37, 41). Au niveau du bord convexe du parasite, l'ectoplasme s'élargit pour former la membrane ondulante qui va en s'effilant jusqu'à l'extrêmité antérieure. Dans le cas où l'endoplasme se raréfie de plus en plus on se rend compte de l'existence de l'ectoplasme qui, lorsque la disparition de l'endoplasme est à peu près complète, forme la presque totalité du parasite. Dans ces cas, la membrane ondulante ne présente aucune limitation d'avec le reste de l'ectoplasme et ceci nous ramène à cette opinion qu'aucune partie de l'ectoplasme ne se différencie sans doute d'une façon exclusive pour le mouvement.

Nous avons dit que l'ectoplasme est incolore: ce n'est pas absolument exact. Par la méthode de Romanowski, il se colore en

bleu beaucoup plus pâle que l'endoplasme; il prend une teinte légèrement rosée avec l'éosine; par la méthode de Laveran il se teinte d'un rose un peu violacé plus prononcé dans la moitié externe de la membrane ondulante; chez quelques parasites, nous avons pu constater même une structure très fine de cette membrane constituée par de fines striations d'un rose violacé droites ou incurvées (*m* fig. 54).

3° Granulations intraprotoplasmiques. — En dehors du centrosome et des corpuscules qui avoisinent le centrosome et constituent la région centrosomique, il existe, fréquemment disséminées dans le protoplasma, des formations arrondies, allongées, en bâtonnets et colorées en violet foncé par la méthode de Laveran. Laveran et Mesnil qui ont signalé des granulations fines dans le trypanosome des rats, des granulations assez grosses dans T. Lewisi, grosses et nombreuses dans T. Brucei, plus rare dans T. Soleæ, leur donnent le nom de granulations chromatiques. Ils observent qu'elles peuvent être disséminées dans le corps du parasite, qu'elles sont souvent plus apparentes dans l'extrêmité antérieure et parfois massées surtout autour du noyau, comme dans T. granulosum. D'après Senn, il ne s'agirait pas de granulations chromatiques mais de principes du plasma ou peut être de corps d'excrétion. Nous verrons dans la suite qu'il s'agit réellement de corps d'origine chromatique. Leur forme, leur situation et leur groupement sont des plus variables: Il peut en exister de une à trois situées au pôle antérieur du gros noyau (fig. 26, 30, 40, 41), à son contact, isolées ou en continuité avec lui par un mince pédicule (fig. 16, 35); parfois il existe jusqu'à une dizaine de ces granulations qui s'alignent à partir du noyau, dans la partie antérieure effilée du parasite (fig. 36, 43). Les unes sont nues, les autres sont entourées d'une auréole claire; elles sont situées dans l'endoplasme qui parfois peut-être teinté autour d'elles par la chromatine diffusée (fig. 26, 63). Des granulations chromatiques existent aussi entre le pôle postérieur du gros noyau et le centrosome, presque toujours dans l'endoplasme, nues ou séparées par une auréole très large et réfringente. Elles peuvent être en contact avec le pôle postérieur du noyau (fig. 52, 56), à son voisinage ou disséminées entre le centrosome et le gros noyau (fig. 21, 17, 50). On peut trouver rarement quelques corps chromatiques auréolés dans l'ectoplasme (fig. 54); dans la figure 55, un corps de même ordre est placée à la limite de l'ectoplasme et de l'endoplasme, sa large enveloppe hyaline déprimant celui-ci. Des corpuscules chromatiques peuvent se disposer sous forme de granulations irrégulières suivant l'axe longitudinal du parasite pour former une trainée qui suit le

bord convexe de l'endoplasme, c'est à dire la base de la membrane ondulante (fig. 18, 21, 39); il peut se former plusieurs trainées parallèles à la précédente et situées dans l'endoplasme (fig. 17). La coloration des granulations et des bâtonnets répandus dans le protoplasma varie du violet au violet noir; certaines, surtout dans la région centrosomique présentent un très grand volume, s'allongent, se divisent par étirement (fig. 37), entourées par une aréole incolore et réfringente.

C. *Le flagelle.* — Parti de l'étranglement situé à la base du bec, le flagelle suit le bord libre de la membrane ondulante qui s'effile de plus en plus et le supporte jusqu'à son extrêmité. Le flagelle apparaît donc comme une sorte d'ourlet arrondi de la membrane ondulante et l'on est porté à le considérer comme une condensation de la partie bordante de cette membrane et par suite comme une différenciation de l'ectoplasme. Coloré en bleu par le Romanowski, la flagelle est teint par la méthode de Laveran en rouge vineux et dans certains cas en violet clair, surtout dans les parties voisines du centrosome, parfois en violet avec des granulations ou des renflements d'un violet noir. Cette réaction colorante doit nous faire réserver notre opinion au sujet de l'origine du flagelle; nous serons amené par nos propres observations et par ce que nous connaissons du mode de formation des flagelles, chez les protozoaires, à admettre plus volontiers une origine chromatique avec participation consécutive de l'ectoplasme. L'extrémité postérieure du flagelle vient se terminer au bord de la zône claire et réfringente qui entoure le corps centrosomique, ce que Laveran et Mesnil ont signalé pour le trypanosome du rat, Tryp. Brucei et d'autres trypanosomes. Pour ces auteurs, il y aurait néanmoins continuité entre le flagelle et le centrosome, car on voit très nettement le flagelle appendu au corps centrosomique, chez les parasites dégénérés. D'après nos obervations, le flagelle vient s'arrêter réellement sur le bord de la zône hyaline qui peut être très étendue; sa base s'y élargit souvent en une petite cupule colorée en rouge violace (fig. 1) et peut subir les modifications variées que nous étudierons avec la région centrosomique. Cette base du flagelle peut se terminer dans un corpuscule ou une masse éloignés du centrosome (fig. 3, 41, 66), mais on peut voir aussi, et en dehors de toute dégénérescence, le flagelle très épaissi venir se terminer directement dans le centrosome lui-même (fig. 16, 47) ou dans un corps chromatique arrondi compris dans l'ouverture d'un centrosome en fer à cheval (fig. 14).

La base du flagelle est souvent dédoublée sur une longueur

variable, chaque branche se terminant par une granulation chromatique distincte du centrosome (fig. 6) ou par un amas de chromatine réticulé (fig. 24) ou nuageux (fig. 4). Sur le parcours des branches du flagelle on peut observer des renflements ou des nodosités ayant les réactions de la chromatine et faisant parfois des saillies volumineuses sous l'ectoplasme. Nous étudierons plus loin les phénomènes qui caractérisent la division du flagelle.

D. *Le corpuscule postérieur* ou *Centrosome.* — Vers l'extrémité postérieure du trypanosome, au niveau de l'étranglement situé à la base du bec, existe un corpuscule, nommé nucléole par Rabinowitsch et Kempner qui l'ont découvert et auquel on a encore donné le nom de geisselwurzel, de corps centrosomique ou centrosome. Cette granulation de volume et de forme très variables prend très fortement la couleur et est séparée de l'endoplasme par une auréole réfringente, incolore sur laquelle vient ordinairement s'implanter la base du flagelle. Ce corps centrosomique qui est coloré par le Romanowski, comme un corpuscule nucléaire, présenterait, d'après Rabinowitsch et Kempner, les réactions de la paranucléïne. Il est coloré en bleu violet sombre par le bleu polychrome de Unna, en bleu noir par la thionine, en noir par l'hématoxiline ferrique, en rouge foncé par la safranine. Par la méthode de Laveran, il se colore en violet sombre et présente la même coloration que les corps nucléolaires enfermés dans le gros noyau.

Le volume du centrosome est variable: il peut s'élever de 1 μ à des dimensions de 3, 4 et 5 μ (fig. 2, 4, 6, 14, 15, 17, 22, 23, 54, 58). Sa forme peut être complètement ronde, même lorsqu'il atteint un grand volume; elle peut être ovale, ellipsoïde (fig. 2, 3, 4, 20, 22, 39), en demi-lune (fig. 11), en croissant (fig. 10, 14, 25) avec des extrémités effilées ou renflées en boules; ou bien, la concavité du croissant peut devenir de plus en plus profonde par amincissement et étirement jusqu'à production de formes en anse ou en fer à cheval (fig; 14, 15, 49, 56) avec des extrémités renflées. Le centrosome peut encore s'allonger en forme de bâtonnet régulier ou renflé aux deux extrémités (fig. 2, 5, 42, 52, 68), s'étrangler en son milieu ou s'étirer en forme de diplocoque (fig. 7, 8, 9, 26, 33, 42) plus ou moins allongé dont les deux parties sont séparées ou réunies par un filament dans leur partie médiane, ou dans leur partie inférieure (forme en **U** ou en valves) [fig. 67]. Le centrosome peut avoir aussi l'apparence d'une masse irrégulière (fig. 27), d'un carré long à bord latéraux arrondis ou irréguliers (fig. 6, 38, 58, 62). Quoique la plupart des formes que nous venons de décrire soient

des formes de division, il est rare d'observer deux centrosomes isolés dans la même zône hyaline: dans les fignres 10 et 18 on en trouve denx arrondis et à peu près égaux; dans la figure 60 les deux corps enfermés dans la même zône sont inégaux et de forme différente, l'nn arrondi et situé dans la convexité de l'autre corps en forme de croissant. La situation et l'inclinaison du corps centrosomique primitif peuvent être très variables: étiré en bâtonnet, en diplocoque, en ellipse, en fer à cheval, le centrosome présente un grand axe qui est ordinairement perpendiculaire à l'axe longitndinal du trypanosome (fig. 1, 6), mais qui peut présenter une inclinaison variable et parfois assez forte pour que le grand axe du centrosome devienne presqne parallèle à l'axe longitudinal du parasite et, pour que dans les formes en croissant ou en fer à cheval, l'onverture regarde tantôt en avant, tantôt plus ou moins latéralement. Tous les auteurs qui ont étndié la structure du corps centrosomique ont abouti à cette conclusion exprimée par Rabinowitsch et Kempner, que le geisselwurzel ne présente aucune structure à aucun moment de son développement, qu'il est homogène et également coloré. Après les colorations par le bleu polychrome, la thionine, l'hématoxyline ferrique, l'hématéïne et le Romanowski, le corpuscule très fortement coloré ne paraît pas en effet posséder de structure et il semble que sa petitesse ne soit guère compatible avec des recherches dans ce sens. Grâce à la méthode de Laveran appliquée comme nous l'avons indiqué au début de ce travail, nous avons pu obtenir des préparations extrêmement précises avec des différenciations d'une grande délicatesse qui nous ont permis de constater une structure véritable.

Les corps centrosomiques punctiformes sont colorés en violet foncé à reflets rose violacé et ont une apparence homogène; leur partie centrale est cependant plus réfringente et d'un violet un peu plns translncide. Cette transparence du centre s'accuse davantage sur les centrosomes ronds de plus grand volume: certains présentent tout leur centre presqne incolore, très réfringent et ont ainsi un aspect quasi vacuolaire (fig. 7, 10, 38, 58). Cette zône centrale incolore se prononce d'autant plus que les corps centrosomiques très hypertrophiés vont commencer leur mouvement de division par étirement et surtout dans certaines formes chez lesquelles la partie claire centrale devient de plus en plus volumineuse à mesure que le centrosome grossit, tandis qne la partie colorée s'amincit en anneau; cet anneau peut se rompre et donner naissance aux corps en forme d'anse, de fer à cheval. Ce processus peut aboutit à nne réduction chromatiqne: dans la figure 57, la même zône hyaline péri-centro-

somique renferme une granulation ronde sitnée dans la cavité d'un corps en croissant; de même dans la figure 23; le corps centrosomique, du volume d'un globule rouge, est formé par une large zône claire arrondie centrée par nn corpuscule violet foncé et entourée, à son pôle supérieur, par une masse chromatique compacte, et à son pôle inférieur, par une autre masse nuageuse d'un violet plus clair. Ce corpuscule central augmente de volnme et finit par être rejeté au dehors. L'on observe, en effet, tous les intermédiaires entre cette structure et celles dans lesquelles on tronve nn centrosome primitif en fer à cheval enfermant dans sa concavité une granulation chromatique isolée ou donnant insertion au flagelle (fig. 14).

Les centrosomes très volumineux, en carré allongé, à bords latéraux arrondis ou irréguliers et à partie médiane claire, présentent un intérêt encore plus grand: Dans ce cas, la partie colorée s'est divisée en deux masses latérales à bords externes bombés, masses qui s'éloignent de plus en plus l'une de l'autre, leurs bords internes irréguliers et comme effilochés demeurant réunis, à travers la partie incolore intermédiaire, par de fins filaments très colorés (fig. 38, 58, 64). Ces figures laissent penser à un processus de division identique à celui d'un centronucleus et même à la possibilité d'un karyokinèse atypique.

On peut observer des structures très compliqnées qui tirent leur origine, tout au moins partiellement, du corps centrosomique primitif et qui constitueront ce que nous allons étudier sous le nom de région centrosomiqne.

La zône incolore qui entoure le centrosome prend la forme du corps centrosomique; elle peut devenir très volumineuse, surtout quand un processus de division ou de réductiou se produit, et s'étrangler en son milieu ponr former une zône hyaline complète an nouveau corpuscule né du centrosome primitif. Dans certains cas, comme dans la figure 60 où le flagelle est en continuité avec une granulation enfermée dans un centrosome primitif en fer à cheval, la zône claire s'étend et englobe toute la partie du flagelle pui présente les réactions de la chromatine. Cette auréole incolore très réfringente à bords nets, est difficile à interpréter. Elle n'est certainement pas une vacuole; elle pourrait, nous semble-t'il, être considérée comme une partie constituante du corps centrosomique qui présenterait dès lors une structnre assimilable à celle du noyau de la plupart des flagellés: innenkörper fortement coloré entouré par un espace clair représentant le noyau, avec point d'insertion du flagelle sur la membrane nucléaire on directement sur l'innenkörper.

E. *Région centrosomique.* — Chez les parasites au repos il existe un corps centrosomique arrondi, entouré d'une zône claire sur le bord de laquelle vient s'insérer le flagelle. Dès que le processus de multiplication commence il se produit des modifications qui peuvent porter à la fois sur le protoplasma, le centrosome et les parties terminales du flagelle. Au début, il se produit un renflement de la base du flagelle qui s'étale enforme de cupule sur la zône hyaline du centrosome et présente une coloration rouge violacé, violet clair, violet foncé (a. fig. 1). Au lieu d'être en contact avec la zône hyaline, la masse terminale du flagelle s'en éloigne, s'arrondit, s'entoure également d'une auréole claire dont les bords sont en contact avec ceux de l'auréole du centrosome primitif (fig. 2 et 3, a). Le point d'insertion du flagelle peut être encore rejeté plus en avant; il est constitué par un petit corpuscule chromatique voisin d'une large zône hyaline qui renferme une granulation violet foncé, et qui entourée d'un nuage de chromatine est au voisinage d'un centrosome primitif enforme de diplocoque (fig. 7). Dans la figure 5 et 8, le flagelle aboutit à une grosse sphère foncée séparée de l'auréole du centrosome primitif par deux petits corpuscules d'un violet noir, plus ou moins inclinés par rapport à l'axe longitudinal du trypanosome; ou bien les deux extrémités du flagelle dédoublé se terminent dans deux corpuscules (fig. 6) ou encore dans deux amas réticulés, violacés plus ou moins éloignés du centrosome primitif. Les figures 9, 10, 15 se rapprochent des précédentes mais présentent des particularités intéressantes: dans la figure 9, le centrosome primitif est dédoublé en deux corps ronds, isolés et enfermés dans une même zône hyaline en voie de division et au contact de laquelle se trouve, en avant, une autre zône claire renfermant deux corpuscules violet noir mais plus petits, d'où partent deux divisions du flagelle; dans la figure 10, la zône hyaline centrosomique renferme un corps en croissant et les extrémités du flagelle dédoublé sont formées par deux amas chromatiques; dans la figure 15, le centrosome primitif enfer à cheval est enfermé dans une large auréole, tandis qu'un amas violet auquel aboutit une division du flagelle est renfermé dans une zône incolore, l'autre division se terminant dans un amas non auréolé. Les figures 14 et 16 sont intéressantes en ce qu'elles montrent que le corps terminal chromatique de l'une des divisions du flagelle est situé dans la concavité du centrosome primitif en fer à cheval, l'autre en étant éloigné (fig. 14), une de ces divisions du flagelle pouvant partir directement du centrosome primitif (fig. 16), ce qui est important pour la démonstration de l'origine centrosomique

des corpuscules terminaux du flagelle. La figure 12 préseute, eu outre, des amas violet foucé non seulement à la base des divisions du flagelle mais encore sur le parcours de ces divisions, ces amas faisant une saillie pronoucée sous l'ectoplasme (fig. 12, *x*, *x*, *x*); ces amas chromatiques penveut devenir très nombrenx (fig. 22 et 40). Dans la figure 36, il existe un centrosome primitif à large zône hyaline réuni par un bâtonnet violet foncé, d'aspect rhizoplastique, à nne autre zône hyaline reufermaut un gros corps chromatique et à laquelle abontit le flagelle. Une structure de même ordre mais plns compliqnée montre, dans la figure 37, nn corps centrosomique primitif étiré transversalement et auréolé, avec, en avant de lui, un épais bâtonnet, disposé dans l'axe longitudinal, puis une masse ovalaire transversale, enfin nn autre bâtonnet bien plns long et plus épais, a bouts renflés en massne et étiré dans sa partie médiane (m. fig. 37). On rapprochera de cette figure les figures 40 et 41. On conçoit qui'l puisse y avoir une relatiou entre les formations péricentrosomiqnes et les corps chromatiques qui formeut nne, 2 ou 3 trainies parallèles dans toute la longueur dn parasite.

Chez certains trypanosomes, le flagelle se termine très loiu du centrosome primitif, soit brusquement, soit dans un corps arrondi volumineux (fig. 25), et, entre la terminaison du flagelle et la zône claire du centrosome, ou peut observer un nuage violet clair avec des sphères foncées an voisinage (fig. 26), ou bieu lenr masse est dissociée en nnages en plus petits (fig. 25). Ces nuages chromatiqnes (chromatine diffusée) peuvent s'étendre le long d'une partie dn flagelle ou snr toute sa longueur, avec des renflements plus ou moins prononcés dont le plns voluminenx est au voisinage du centrosome et renferme ou non des corpuscules foncés (fig. 59 et 61).

Mais parmi les formatious chromatiques de la région centrosomique, certains méritent d'attirer particulièrement notre attention, à cause de leur ressemblauce avec les stades d'un processus karyokinétique. Ainsi, dans la figure 24, le flagelle se termine par un fin corpuscule d'où part une masse de chromatine réticulée préseutant la forme d'une tnlipe dont la cavité enfermant un corpnscnle violet foncé, serait fermée par le corps ceutrosomique primitif, volumineux, à grand axe transversal. Même disposition dans la figure 25 qui présente denx corpuscules an niveau de la concavité de la tulipe; dans la figure 26, entre l'extrémité du flagelle terminé pas uu corps arrondi et le centrosome primitif, la figure a pris une disposition en un fuseau coustitué par 3 filameuts très apparents et porteurs, chacuu, à leur région équatoriale d'un bâtonnet de chroma-

tine disposé en longueur, effilé aux extrémités et ayant l'aspect de chromosomes d'une karyokinèse à la période de métaphase. Dans la figure 28, on voit partir du corpuscule terminal du flagelle qui paraît jouer le rôle de centre de direction, un filament qui se dichotomise et donne naissance à des divisions terminées par un corpuscule violet foncé, des corpuscules semblables existant aussi en certains des points de dichotomisation: Cette figure est très comparable à une figure de mitose plus avancée. Les figures 29 et 30 et surtout la figure 30 nous paraissent pouvoir être considérées comme l'aboutissant de ces formations, les chromosomes séparés formant de gros corpuscules arrondis *disposés en rosette*. Dans la figure 50, on constate cinq de ces gros corpuscules violet noir, entourés chacun par une zône hyaline très nette et disposés en cercle, en rosette, autour d'un renflement terminal volumineux du flagelle, le centrosome primitif ayant cette fois disparu. Les figures annexées à ce travail permettront de constater encore d'autres modifications de la région centrosomique: nous aurons à y revenir au moment de l'interprétation de ces structures.

F. *Le Gros noyau.* — Vers l'extrémité antérieure du corps du parasite il existe un corps volumineux coloré en violet plus clair que le centrosome et qui présente l'apparence ordinaire d'un noyau. Il est appliqué, en général, contre le bord concave du trypanosome c'est à dire du côté opposé à la membrane ondulante et dans cette partie de l'endoplasme qui commence à s'effiler. Nous avons vu que les rapports du noyau avec l'endoplasme pouvaient être très variables.

La *forme* du noyau est rarement ronde, sauf immédiatement après la division; il est d'habitude ovale ou ellipsoïde, renflé ou allongé, son grand axe dirigé deux le sens de la longueur du trypanosome et son bord externe suivant ordinairement la courbure de la paroi. Il peut être bosselé dans sa partie médiane, parfois d'un seul côté, présenter une extrémité ronde et l'autre effilée (fig. 10), s'allonger en forme de boudin (fig. 17) ou de fuseau. Dans tous ces cas, le noyau est nettement limité; mais il peut prendre un aspect diffus, sans limites précises avec la forme d'un amas volumineux, allongé ou irrégulièrement fusiforme (fig. 19, 21, 35), et parfois réduit de volume; sa substance peut se disperser dans le protoplasma (fig. 60, 52), et même disparaitre d'un façon totale. Dans la figure 58 on ne trouve plus trace en effet d'aucune condensation chromatique, mais seulement quelques nuages effilochés violet clair et disséminés dans toute l'étendue du protoplasme.

La coloration du noyau est celle de la chromatine: il est coloré en bleu foncé par le bleu polychrome, en violet bleuâtre par l'hématéine, en gris noir ou en noir par l'hématoxyline ferrique, en rouge par la safranine, en bleu foncé par le Romanowski. Par la méthode de Laveran, telle que nous l'avons appliquée, il est coloré en violet plus ou moins foncé: au premier abord, il semble que la coloration soit uniforme, mais à de forts grossissements on constate dans son intérieur des differenciations précises. Certaines parties apparaissent colorées en violet très foncé, au même titre que le centrosome, la fond etant d'un violet plus clair de sorte que le noyau présente une teinte générale d'un violet plus clair ou plus foncé suivant la prédominance de l'une ou de l'autre de les deux parties.

Rabinowitsch et Kempner ont noté une structure en réseau; le noyau forme une vésicule réticulée d'aspect chromatique qui réagit comme la chromatine des cellules supérieures. Plimmer et Bradford le décrivent comme une masse uniformément colorée ou présentant, chez les trypanosomes en division, de fins filaments. Chez le trypanosome des rats, Laveran et Mesnil notent dans le noyau des granulations qui se colorent plus fortement que la masse principale; chez Trypanos. Brucei, au moment de la division, le noyau augmente de volume, la chromatine s'accumule aux extrémités, puis il se fait une division directe en 2 parties (1902). Chez Tryp. magna, ces mêmes auteurs décrivent, dans le noyau, des vacuoles avec grain de chromatine; la vacuole et le grain s'allongent, la chromatine s'accumule aux extrémités du noyau, puis il se fait une separation en deux, par étranglement: il n'existe ni fuseau, ni formations radiées dans le protoplasma mais l'on peut observer un corps qui se porte vers la périphérie et qui paraît être un nucléole.

Nos recherches nous ont permis d'observer, avec de forts grossissements, et grace à quelques excellentes préparations obtenues avec la méthode de Laveran, les détails de structure qui suivent.

Les noyaux au repos sont formés par une masse violacée d'apparence uniforme au premier abord, mais avec de très forts grossissement et un éclairage artificiel intense on constate que le noyau est formé, en réalité, de parties granuleuses ou de petits blocs irrégnliers, colorés en violet foncé, et separés par de petits intervalles colorés en violet plus clair (fig. 1). Cette structure peut devenir plus précise et laisse apparaitre des amas très foncés, disposés surtout le long de la paroi, arrondis ou irréguliers et plus ou moins

nuis les uns aux autres de façon à former un réseau serré (fig. 2). Certains noyaux hypertrophiés out une teinte générale violet clair sur laquelle tranchent des corpnscules colorées eu violet noir, arroudis, de uombre et de volume variables: dans la figure 13 on voit deux de ces corpuscules situés aux 2 pôles dn uoyau; dans la figure 12 on constate trois corpuscules voluminenx, dans les figures 5, 6, 9, 34, 38, 45, il existe uu uombre variable de granulations de plus petit volume. Ces granulations foncées peuvent être très nombreuses; elles sont arroudies, allongées, irrégulières, et peuvent donner uaissance à des filaments qui s'uuisseut d'une façou plus ou moins nette. Ces corps fortement colorés intranucléaires forment parfois 3 ou 4 amas irréguliers periphériques (fig 42) ou situés au centre et réunis par quelques filaments eu un réticnlum. Les amas violet foncé se fondent parfois en une masse homogène qui se porte vers la periphérie laissant nne partie centrale en violet très clair (fig. 64, 65); cette sorte de condensatiou se fait plus marquée vers la surface. Les parties foncées vont s'accumuler de plus en plus vers les pôles antérieur et postérieur (fig. 14, 17, 32, 55); certaius uoyaux apparaissent formés de 2 masses compactes situées aux extrémités et qni laissent entre elles uu large espace violet très clair ou même incolore (fig. 55, 65), et même une porte de bande incolore qui paraît conper le noyau en deux (fig. 10). Dans la figure 8, les masses polaires s'étirent eu bâtonnets épais et plus ou moins tordus sur eux mêmes, qui tendent à se rejoiudre pas de puis filaments à travers la partie centrale claire, de façon à prendre l'apparence de chromosomes. Dans la partie ceutrale claire, il pent exister un ou plusieurs graius arroudis, foncés (fig. 9, 14, 64) et parfois ou trouve également un gros grain coloré hors du noyau, accolé à sa paroi, le plus souvent au pôle antérieur (fig. 30). Dans de nombreux cas il n'existe plus qu'une seule masse polaire violet foncé, en forme de coiffe, le reste du uoyau clair, s'effilant au pôle opposé (fig. 36, 41), avec une à plusieurs granulations parfois entourées d'un zône incolore, une granulation volnmineuse siègeant au niveau de l'effilure du noyau, au coutact de la paroi (fig. 30) ou au sommet d'un pédicule extraunclèaire assez allongé (fig. 35, 16), ou encore complètement séparée dn noyan (fig. 26, 41). On assiste ainsi à une veritable sortie de corps chromatique à travers la membrane nncléaire amincie. Dans les figures 42, 29 et 56, la masse nucléaire colorée parait entrer en mouvemeut pour former des sortes de bâtonnets bourgeonnants on entrecroisés (*a*, fig. 42) qui se divisent, (*a*, fig. 29), puis chaque pôle présente deux petites masses foncées,

en division, séparées par une zône claire (fig. 56), tandis que 2 petits masses anréolées paraissent avoir été expnlsées du noyan à chacun des pôles du quel elles sont en contact. La figure *a* 49 dont être rapprochée des précédentes, avec vers les 2 pôles, une large zône claire renfermant nne graunlations et, au centre, nne autre corpuscule foncé isolé. Dans la figure 16, les masses polaires n'existent pas et l'on est en présence d'un uoyan très volnmineux formé pas un réticulum délicat parsemé de grannlations arroudies, les unes très fines, d'autres volumineuses, l'une d'elles étant entonrée d'uue large zône claire, une autre étaut située au sommet d'un prolougement chromatique extranucléaire. Toutes les formes précédentes dn gros noyau ont nn bord précis, mais il est difficile de dire s'il existe une veritable membrane nucléaire, surtout pour les formes à amas chromatiques périphériqnes; toutefois chez les noyaux violet clair, le bord apparait plus foncé, de sorte que nous pouvons admettre que le noyau est formé d'une membrane violette, d'un substratum nucléaire violet clair, de granulations on masses violet foncé et d'un substauce achromatique.

Mais toute trace de membrane ou de condensation péripherique peut disparaître: le uoyau se préseute comme une masse de filaments enchevêtrés, en un écheveau lache (fig. 14), et surtout comme un amas de granulations susceptibles de preudre les formes les plus variées. Ainsi dans la fignre 25, le noyan qni a pris l'aspect d'un fuseau à veutre très renflé est formé par un espace clair central renfermaut un grain foncé, et par des graunulations qui remplissent le reste du noyau et s'effilent aux deux pôles. Dans la figure 51, le noyau est formé par nne masse violacée, renfermant 7 à 8 granulations foncées et au pôle antérieur, 3 corpuscules entourés d'un zône hyaline situés dans de la substance chromatique diffusée. La figure 43 est du même ordre, la membrane paraissant encore au pôle postérieur, les granulations passant dans le protoplasma, pour former une trainée vers l'extrêmité antérieure. Les figures 18, 19, 20, 21, montrent un noyau complètement dépourvu de toute membraue, formé d'une masse diffuse criblée de granulations isolées ou réunies par de fines travées chromatiques, et pouvant renfermer une à 2 granulations plus volumineuses eutourées d'une zône incolore (fig. 18); le noyau peut s'effiler vers le pôle postérieure en nne trainée de granulations foncées qui suit le bord convexe de l'endoplasme, et parfois en 2 à 3 trainées paralleles. Toute la masse nncléaire peut diffuser avec ses granulations, le long du flagelle (fig. 59), avec des renflements successifs (fig. 61), et atteindre la région, centrosomique. Le noyau après la

diffusion de la chromatine finit par être reduit à nne sorte d'anneau violacé (fig. 35), où à une fine ponssière violacée en rapport avec nne dégénérescence terminale (fig. 60).

Dans le voisinage du noyau on observe des formations variées; nons venons d'en indiquer certaines qui sont au contact immediat du noyau et prennent l'aspect de corpnscules polaires. En dehors de ces corps arrondis qui sont accolés au noyau ou lui sont réunis par nn prolongement plus on moins long (fig. 16 et 66) il existe toute nne série de formations susceptibles de s'isoler dans le cytoplasme. Dans le cas le plus simple, il s'agit d'un grain foncé isolé dans le protoplasme, près du pôle antérieur (fig. 65, 67), on d'une granulation entourée d'nne large zône claire accolée au noyau (fig. 28), ou éloignée de lui (fig. 26), les limites de la zône clairé étant d'autant plus apparentes qn'elle est entourée de l'endoplasme coloré. Ces granulations aréolées peuvent siéger hors de l'endoplasme, dans l'ectoplasme, vers le bord convexe du noyau où l'auréole se marque cependent avec netteté par sa refringence qui laisse penser à l'existence d'nne snbstance et non à une vacuole (fig. 55 et 54). Il peut exister nn corps entouré d'une large zône hyaline à chacun des pôles du noyau, la même zône pouvant renferme plusienrs corpuscules (fig. 56); dans certains cas, on constate 2 ou 3 corps aréolés à nn seul pôle, au pôle anterieur, par exemple. Le corpuscule coloré enfermé dans la zône claire peut prendre une forme en bâtonnet avec des grannlations également aréolées à son voisinage (fig. 64), hors de l'endoplasme; on bien il existe 2 corps aréolés séparés du noyau mais accolés entre eux, avec une granulations dans l'angle de contact (fig. 63). Dans la figure 51 il existe 3 corps aréolés au contact du noyau mais ils sont enfermés dans une masse de chromatine diffuse qui paraît s'être échappée du noyau clair et comme vidé. La figure 7 montre hors du noyau, des grains irrégnliers disposés en chaîne et aboutissant à une granulation aréolée qui, malgré son éloignement du noyau, est entourée d'une petite masse de chromatine diffuse (*a*, fig. 7).

Nons avons dejà signalé ces granulations violacées irrégulières qui parties dn pôle postérieur dn noyau se disposent en rangées en suivant le bord de l'endoplasme pour aboutir au centrosome ou à son voisinage (fig. 62); parfois les granulations sont sitnées dans l'ectoplasme. Dans la figure 50, la chromatine du noyau est condensée en 3 rubans parallèles et il existe un grain foncé éloigné du pôle antérieur, nn grain en forme de diplocoque vers le pôle postérienr

et plus loin, un autre corps diplococcique entouré d'un large zône hyaline (*d*, fig. 50).

La structure du noyau de la figure 52 est intéressante: le noyau est formé par une petite masse de chromatine finement granuleuse, entourée de 4 gros corpuscules très foncés et qui se prolonge vers le pôle antérieur par des gains disposés en chaînette dans un nuage de chromatine diffuse, et vers le pôle postérieur par 2 granulations d'où part un filament aboutissant à un grain voisin du centrosome.

II.

Signification et relations des diverses structures du trypanosome. Processus de division.

Les modifications de structure que nous venons d'étudier nous fournissent des données importantes pour établir la signification des parties constituantes du trypanosome et en particulier des appareils nucléaires.

1° *Corpuscule et région centrosomique.* — Pour Laveran et Mesnil, le corps qui dans Tryp. Brucei, est à la base du flagelle augmente de volume, s'allonge, se divise en deux corps arrondis, tantôt avant, tantôt après la division du gros noyau; ils interprètent ce corpuscule comme un centrosome. Pour accorder toutefois, d'une façon certaine, le rôle de centrosome au geisselwurzel, il faudrait démontrer qu'il joue le rôle de sphère attractive dans la mitose. Malheureusement on n'a pas observé de phénomène de karyokinèse pour les noyaux des trypanosomes et les accumulations de granulations en formations régulières périphériques, signalées par Stassano, ne sont pas suffisantes pour faire admettre l'existence d'une mitose véritable. L'objection de Vignon d'après laquelle le blépharoplaste demenrerait immobile malgré ces phénomènes de distribution spéciale de la chromatine ne serait donc pas fondée.

L'opinion de Bradford et Plimmer d'après laquelle le geisselwurzel représenterait un micronucleus comparable à celui des infusoires est appuyée par les observations de Léger et de Schaudinn sur les corps particuliers qui existent à la base des cils des gamètes de coccidies et de grégarines et qui participeraient à la fois des caractères d'un centrosome et d'un micronucleus. Il serait possible que le geisselwurzel des trypanosomes soit aussi, à la fois, un

micronucleus et un centrosome; il jouerait donc en rôle de centre cinètique interne et de centre cinètique externe, comme cela est admis pourle centrosome de Noctiluca. Nous signalerons également l'opinion de SENN d'après laquelle le geisselwurzel n'est pas un centrosome mais seulement une différenciation du périplaste au méme titre que le flagelle.

Voyons si nos observations éclairent le problème.

Nous avons montré que le geisselwurzel est très fortement coloré en violet foncé, comme les granulations intranucléaires et entouré d'une zône incolore très apparente. Il peut s'étrangler dans son milieu, prendre une forme en haltère ou en diplocoque. ou se diviser totalement en deux corpuscules arrondis (fig. 6, 7, 8, 9). A côté de cette forme de division directe par simple étranglement, le geisselwurzel peut augmenter fortement de volume, devenir irrégulier et bosselé, présenter un centre clair tandis que la chromatine se sépare en deux amas latéraux réunis par quelques filaments violacés (fig. 53, 62, 58, 64). Ce corps hypertrophié agit donc comme un Karyosome composé, comme un centronucleus, la partie claire centrale jouant le rôle de centre de division pour la masse de chromatine qui l'entoure. En dehors de ces deux modes de division, nous avons plus haut noté une succesion de formes qui nous paraissent mettre hors de doute une division karyokinètique. Dans la figure 33, le corps basal est très augmenté de volume; il est constitué par une granulation centrale enfermée dans une large zône incolore celle- ci étant entourée par une masse de chromatine compacte à son pôle postérieur, diffuse et nuageuse à son pôle antérieur, point d'insertion du flagelle. Dans la figure 24 la zône incolore se divise, une partie allant au pôle antérieur, au point d'insertion du flagelle; on a ainsi une formation en fuseau mal formé ayant à chaque extrêmité une granulation dont le rôle de centrosome ne parait pas douteux (fig. 25). Il nous a paru qu'il n'y avait pas toujours une formation de 2 petits grains centrosomiques mais que le reste du geisselwurzel qui demeure à la partie postérieure et que nous désignons sous le nom de centrosome primitif résiduel, jouait le rôle de centre de division au pôle postérieur du fuseau karyokinètique. Dans les figures 26, 27 et 28, les phénomènes s'accusent de plus en plus dans le sens d'une mitose véritable: le fuseau, disposé entre deux fines granulations centrosomiques est formé par trois filaments très apparents portant des chromosomes disposés dans leur axe longitudinal. effilés à leurs extrêmités avec un renflement chromatique au centre (fig. 26); les chromosomes deviennent encore plus nets (fig. 27) et on a une figure de

karyokinèse à la période de prophase. Dans la figure 28, les filaments de chromatine se dichotomisent et forment une arborisation portant des sphérules nucléoliformes terminales ou situées aux points de bifurcation, absolument comme dans une figure de mitose.

Ces chromosomes s'arrondissent en grains et paraissent susceptibles de se disposer en rosace, comme dans les figures 29 et 30. Au voisinage de ces diverses figures mitosiques et affectant la situation d'un geisselwurzel, persiste une partie du centrosome primitif, susceptible, comme nous l'avons vu, de jouer le rôle de centrosome dans la mitose, de sorte que le corps basal n'est jamais absent. On peut donc dire que le geisselwurzel ou corps centrosomique du trypanosome au repos se diviserait, dans sa plus grande partie par karyokinèse, une petite partie persistant, dans la situation primitive du geisselwurzel, mais ayant perdu ses relations avec le flagelle. Le geisselwurzel ne joue donc pas seulement le rôle d'un corps centrosomique mais bien celui d'un noyau véritable susceptible de se diviser par karyokinèse après avoir fourni deux grains qui joueront le rôle de controsomes dans la mitose, ou bien un seul grain, ce qui reste du geisselwurzel (centrosome primitif résiduel) pouvant remplir la fonction de l'un de ces centrosomes. L'ensemble du geisselwurzel primitif a donc la signification à la fois d'un micronucleus et d'un centrosome avec la possibilité d'émettre deux corpuscules centrosomiques véritables. L. Léger, en étudiant Herpetomonas jaculum, avait remarqué entre le noyau et l'extrémité antérieure, l'existence d'un corpuscule basilaire du fouet ayant, au dessous de lui une, zône claire, le flagelle se terminant un peu en avant dans un petit grain géminé auréolé. On reconnait là une disposition de même ordre que celle que nous avons signalée pour notre trypanosome.

Comme ce dernier grain présente les caractères des centrosomes des spermatides des Grégarines, Léger pense qu'il pourrait être assimilé à un centrosome plutôt que le corps basilaire lui-même, cet auteur faisant toutefois observer qu'il serait prématuré de se prononcer avant d'avoir étudié son rôle au moment de la division du noyau. Nos observations au sujet de notre trypanosome du lapin viennent préciser la formation et la signification de ces formations; elles confirment l'hypothèse de Schaudinn d'après laquelle le geisselwurzel des trypanosomes serait à la fois un micronucleus et un centrosome.

Ces considérations vont nous faciliter l'interprétation d'autres formations si particulières de la région centrosomique. Nous avons vu que la figure micronucléaire du trypanosome au repos en formée

par une masse chromatique centrale (innenkörper) et une zône claire périphérique sur laquelle s'insère le flagelle (fig. 1). Au lieu de se terminer sur la zône claire le flagelle se termine par une granulation très colorée entourée elle anssi d'une zône claire voisine de la précédente (fig. 2 et 3). Les figures 13 et 14 nous montrent que le nouveau corpuscule basal du flagelle naît par une sorte de réduction du micronucleus: l'on assiste en effet à l'émission de ce corpuscule basal hors du micronucleus en fer à cheval. Ce corps basal se divise en deux grains qui se séparent et sont placés à la base de chacune des deux petites divisions du flagelle qui se prodnisent à ce moment (fig. 8, 10, 11). Or sous l'influence de la division de ce corps terminal du flagelle, le micronucleus s'étire aussi transversalement prend une forme diplococcique et finit par se diviser complètement en deux. Les corpuscules basaux du flagelle divisé ne jouent par seulement le rôle de centres cinétiques externes pour les mouvements dn flagelle, mais peuvent encore jouer celni de centres de division pour le micronucleus qui les a expulsés; ils sont à la fois des geisselwurzel et des centrosomes, phénomènes qui sont identiques à ceux indiqués par Léger chez Herpetomonas jaculum.

On peut observer des figures plus compliquées et d'explication malaisée: ainsi dans la figure 5 il existe entre le micronucleus et le corps basal du flagelle, deux granulations diversement inclinées et dans les figures 42, 43, un grand nombre de corpuscules chromatiques volumineux.

D'autres figures nous paraissent en relation avec un processus de division transversale: dans la figure 37, au dessous du micronucleus sont disposés, dans la longueur du trypanosome, une série de corps chromatiques volumineux, les uns situés transversalement, les autres allongés l'un de ses derniers s'étirant dans sa partie médiane; des étranglements de l'ectoplasme se produisent à la périphérie du parasite. On peut faire les mêmes considérations au sujet de la figure 41.

A la phase de début de la division du flagelle on peut observer à l'extrémité de chaqne division non plus une simple granulation mais une formation volumineuse qui laisse penser à une mitose: chaque branche du flagelle se termine par une cupule colorée en violet foncé à laquelle est attaché un peloton chromatique allongé et qui porte au pôle opposé une fine granulation isolée au voisinage d'un micronucleus résiduel en forme d'haltère (fig. 8). Peut-être s'agit-il là d'un vrai processus mitosique à la phase de dispirème qui aboutira à la formation de micronuclei nouveaux. Les corpus-

cules émis an nombre de 4 par le micronucleus joneraient 2 à 2 le rôle de centrosomes ponr la masse de chromatine existaut à la base des flagelles. Nous avons pensé, en étudiant plus haut, les formation karyokinétiques du pôle postérieur que c'était la substauce même du micronuclens qui entrait en mitose. En étudiant les figures (fig. 5, 8 et 9) et en considérant la division en deux du micronuclens résidnel sous l'influence des fines granulations centrosomiqnes sous jacentes, on peut se demander si une partie de la chromatine qui forme les amas situés à la base de chaque division du flagelle ne ponrrait pas provenir, dans certains cas, non du micronucleus mais de la chromatine diffusée par le gros noyau dans le cytoplasme (chromidium), pour donner naissance à de nouveaux macronuclei.

Les corpuscules émis par le micronucleus joueraient donc le rôle: 1° de centres kinétiques externes pour les mouvements du flagelle (geisselwurzel), le micronncleus résiduel jouant le rôle de centre cinétique externe pour les mouvements de l'ensemble du corps du trypanosome; 2° de centres cinétiques internes pour la division mitosique du microuncleus (centrosomes vrais); 3° de centres de division pour la division en deux du micronucleus lequel se comporterait comme un nucléocentrosome; 4° peut-être de centres d'attraction pour la chromatine du macronucleus diffusée dans le protoplasme.

Les corps chromatiqnes volumineux, arrondis et largement auréolés que nous avons vu dispersés dans l'endoplasme, sont d'une interprétation difficile. Comme ils sont disséminés du micro au macronucleus et qne certains ont une origine micronucléaire indubitable, on peut penser qu'ils sont susceptibles de venir se placer aux pôles du macronucleus pour y prendre l'aspect typique de corpuscules polaires et agir sur le macronucleus comme des centres de division. Cette interprétation serait rendue admissible par ce qne nous savons des rapports du micro et du macronncleus chez les infusoires. Mais nous avons pu suivre de près la formation de gros corps chromatiques aréolés dans l'intérieur même du gros noyau, nous avons assisté à leur expulsion de ce dernier, de sorte qu'il nous est difficile de penser que ces globules polaires du macronucleus ne sont pas des centres de division nés du macronucleus lui-même.

2° *Le gros noyau.* — Nous avons vu que si dans le gros noyau au repos il existe une grande quantité de substance fortement colorée, dans le noyau en mouvement le contenu nucléaire se différencie en une substance nucléolaire violet foncé et une substance chromatique violet clair et est entouré d'une membrane. Le processus de division paraît se faire suivant des modalités variées. Le noyau peut

se diviser par simple étranglement en deux noyaux ronds, violet clair avec de volumineux nucléoles périphériques (fig. 3 et 11). Dans d'autres cas, le noyau augmente de volume, son centre devient clair, réfringent, incolore, s'allonge et joue le rôle d'un centralkörper aux pôles duquel se porte la substance chromatique et nucléolaire, en masses compactes (fig. 9, 14, 32, 55) qui s'allongent parfois en bâtons légèrement flexueux et plus ou moins fusionnés (fig. 8). Dans certains cas, les parties colorées sont séparées par une large bande perpendiculaire au grand axe du noyau (fig. 10), ainsi que Stevens l'a vu pour certains infusoires. Nous n'avons pas observé de division karyokinètique classique du noyau. Cependant la figure 42 et surtout la figure 29 et la figure 56 laissent penser à la possibilité d'un mode atypique de division indirecte: le noyau allongé présente deux corps auréolés extranucléaires, à chaque pôle, et, dans son intérieur, il existe une partie centrale incolore, réfringente, allongée et vaguement striée, aux extrêmités de laquelle on note une masse de chromatine réalisant assez bien la figure d'une mitose; la figure 29 représenterait une phase avancée et proche de la division en deux parties. Il pourrait s'agir là d'une sorte de mitose atypique aboutissant à une division directe.

Les corps nucléolaires du noyau, volumineux, colorés en violet noir sont en nombre très variable: on peut en trouver deux, un à chaque pôle (fig. 13), trois ou un plus grand nombre et disséminés dans le noyau ou appliqués contre la membrane (fig. 6, 12, 26, 27); certains sont entourés d'une auréole réfringente, incolore, arrondie (fig. 49). Les corps non auréolés sont susceptibles d'être expulsés du noyau par une sorte de processus de réduction dont on peut suivre les phases: vers l'extrêmité antérieure par exemple, du gros noyau, le corpuscule nucléolaire vient au contact de la paroi, la pousse au dehors, l'étire, fait une forte saillie et sort enfin du noyau, réuni encore à ce dernier par un pédicule coloré qui s'allonge, s'étire et se rompt, laissant le corpuscule en liberté (fig. 16, 28, 30, 66). L'émission à travers la paroi nucléaire parait donc se faire par une sorte d'extension avec amincissement de la paroi qui laisse passer le corpuscule; dans la figure 16, la membrane très amincie laisse passer de volumineux corps chromatiques. Cette membrane nucléaire peut se dissoudre totalement d'abord à l'un des pôles: dans la figure 43, le noyau par sa partie postérieure dépourvue de membrane, se vide de ses corpuscules qui vont s'aligner en une série plus ou moins longue dans la partie antérieure effilée du cytoplasme. Une partie de ces corpuscules nous paraît représenter une réduction chromatique

qui précède la formation de chromidies et la destruction du noyau qui se réduit a de petits amas de fine poussière (fig. 60). Les corpuscules intranucléaires auréolés peuvent aussi être expulsés du noyau et passer dans le cytoplasme (fig. 7, 17, 26, 51, 54, 64). Ils sont au nombre de un, deux ou trois accolés à un pôle du noyau ou isolés dans le cytoplasme, à son voisinage, où ils sont parfois entourés d'une zône colorée en violet (chromatine diffusée dans l'endoplasme) [fig. 26, 51]. Cette chromatine diffusée dans l'endoplasme vient du gros noyau: dans la figure 51, en effet, le noyau qui a perdu sa membrane est formé par une masse violacée à nombreux corpuscules foncés, en continuité avec un nuage épais de chromatine qui renferme des corps auréoles et qui sur les bords se limite mal de l'endoplasme. Dans la figure 18, le phénomène apparaît encore avec plus de netteté.

Quelle est la signification de ces corpuscules nucléolaires? En étudiant le micronucleus nous avions émis l'hypothèse que ces corps auréolés pourraient être de petits micronuclei ou des corps émis par le micronucleus et susceptibles de jouer le rôle de centrosomes vis à vis du gros noyau (fig. 26, 28). On observe en effet un de ces gros corps auréolés à chacun des pôles du gros noyau au moment où ce dernier présente un mode de division qui se rapproche d'une mitose atypique. Mais nous venons de constater, que ces corpuscules auréolés extranucléaires peuvent trouver nettement leur origine dans le gros noyau, d'où ils sont expulsés pour jouer à chacun des pôles, le rôle de centres de division. Le macronucleus serait ainsi assimilable à un nucléocentrosome.

Quelle est la signification des corpuscules chromatiques non auréolés qui passent aussi du noyau dans le cytoplasme. Les plus volumineux nous paraissent représenter une émission de chromatine active destinée peut-être à se porter dans la région du micronucleus. Après l'émission de ces gros corpuscules et la membrane nucléaire ayant disparu, le gros noyau tout entier s'étale, se résout en un grand nombre de fines granulations, dans une masse de chromatine bien limitée qui s'étire, s'effile à ses extrémités (fig. 18, 19, 20, 21) puis diffusant de plus en plus, formant des traînées, des amas irréguliers d'un violet clair avec le nombreux grains foncés. Ces amas suivent l'axe longitudinal du parasite, vers la base de la membrane ondulante et atteignent la région du micronucleus (fig. 59, 61): ils sont assimilables aux formations chromidiales de Hertwig, l'ensemble du gros noyau, après la réduction des gros corpuscules karyosomiques et la disparition de la membrane, pouvant être assimilé à un réseau chromidial. La figure 59 permet de penser

que cette chromatine diffusée peut entrer dans la constitution des amas et des nuages chromatiques de la région centrosomique, et servir à la formation de nouveaux macronuclei, les restes du macronucleus primitif disparaissant sous forme d'un fine poussière chromatique (fig. 60).

Nous avons vu encore que des corpuscules chromatiques irréguliers partis du noyau à son stade de réseau cromidial en diffusion, peuvent former des trainées allant du micro au macronucleus le long du bord convexe de l'endoplasme. Ces trainées peuvent aboutir à la formation d'un filament homogène (fig. 18, 19, 20, 21) aboutissant à un corpuscule chromatique de la région centrosomique: nous pourrions penser, dès lors, que le flagellum présente, dans ce cas, une origine nucléaire et serait dû à la modification d'une partie du réseau chromidial.

En somme donc, de même que le corpuscule chromatique postérieur est assimilable à un micronucleus, de même le gros noyau peut-être considéré comme un macronucleus. Tous deux paraissent pouvoir se diviser à la fois suivant un processus de division directe et de division mitosique ou très voisin de la mitose. L'un, le micronucleus, joue à la fois le rôle de centre cinètique externe pour le flagelle et le corps même du trypanosome (geisselwurzel et basalkörper) et de centre cinètique interne (centrosome), de par les corpuscules centrosomiques qu'il émet et qui servent de centres de division au micronucleus lui-même et peut-être pour le gros noyau; l'autre, le macronucleus, agit tantôt comme un centronucleus, tantôt comme un nucleocentrosome avec expulsion de corpuscules polaires et peut-être se divise-t-il par karyokinèse, puis, à un moment donné, sa chromatine diffuse dans le cytoplasme et constitue une formation chromidiale susceptible de former de nouveaux noyaux par son transport dans la région centrosomique (en se combinant peut-être avec des parties du micronucleus) et de donner naissance à de nouveaux flagelles.

3° *Origine et division du flagelle.* — D'après Rabinowitsch et Kempner, lorsque la division du corps commence, la membrane ondulante et le flagelle disparaissent ou sont conservés. Laveran et Mesnil ont vu que, après l'augmentation de volume du noyau, la base du flagelle s'épaissit et le flagelle se divise sur une petite partie de sa longueur, après division du centrosome, l'une des 2 divisions se libérant pour donner naissance à un flagelle latéral. Mais, ainsi que le font remarquer Rabinowitsch et Kempner, les phénomènes qui se produisent avant la division du flagelle, et cela non seulement chez les trypanosomes mais d'une façon générale, chez les flagellés, demeurent inconnus.

Pour arriver à comprendre la formation de nouveaux flagelles il est nécessaire de connaître l'origine même du flagelle. D'après Laveran et Mesnil, le flagelle serait une surface chromatique car sa coloration est celle de la chromatine, tandis que d'après Senn il s'agirait d'un simple épaississement du périplaste, la réaction colorante ne pouvant suffire à affirmer sa nature chromatique. Il est en effet nécessaire de se baser non seulement sur la coloration mais surtout sur ce fait que le flagelle a son point de départ dans la substance nucléaire de l'animal.

Le flagelle est comparable au filament axial des spermatozoïtes qui apparaît comme un prolongement du centrosome ou est assimilable au rayon polaire de la figure achromatique attachée au centralkörper (Meves). Chez les Flagellés, Prowazek montre que le flagelle peut naître dans l'innenkörper du noyau et se former à ses dépens de sorte que le flagelle est une différenciation nucléaire fibrillaire susceptible de se retransformer en un innenkörper. Le flagelle peut aussi être attaché à un zygoplaste réuni au noyau par un rhizoplaste qui touche la membrane du noyau ou naître d'un corpuscule basal indépendant du noyau. Chez Polytoma uvella et Chlamydomonas, il y a à la base du flagelle un basalkörper uni au noyau par un rhizoplaste: ce dernier représenté un centrosome proximal, le basalkörper un centrosome distal et le condyle un simple moyen d'attache du rhizoplaste au noyau. On arrive à cette conclusion qu'il existe un rapport étroit entre le noyau, le geisselwurzel, le basalkörper, le rhizoplaste et le flagelle, ce dernier paraissant tirer son origine de la substance nucléaire; cette origine nucléaire est indubitable dans le cas de Prowazek où le flagelle né de l'innenkörper est susceptible de se retransformer en innenkörper.[1])

L'examen de nos figures montre que le flagelle peut se former d'après plusieurs types: 1° Dans le cas le plus simple, le corps centrosomique émis par le micronucleus se divise en deux et le flagelle se divise également à partir du double grain centrosomique sur une petite étendue (fig. 6, 9, 10, 11); 2° dans un certain nombre de cas on voit partir des gros grains de la région centrosomique deux flagelles qui bien séparés qui vont se rejoindre seulement au voisinage

[1]) Léger, dans un travail paru au moment où nous venions d'envoyer ce travail à l'impression, a montré que dans les spermatozoïdes fusiformes de certaines grégarines (stylorynchus), le centrosome donne naissance au filament axial, les relations du centrosome et du filament étant on ne peut plus nettes. Il constate de chaque côté du noyau un centrosome géminé qui donne naissance à un filament; les deux filaments vont se rejoindre dans la queue du spermatozoïde.

du macronucleus; il est probable qu'il ne s'agit pas là seulement d'un dédoublement longitudinal du flagellé primitif mais d'une production aux dépens des corps centrosomiques; on peut voir en effet naître de ces corps un flagelle court qui a son extrémité en liberté sur les parties latérales du trypanosome; 3° le long du flagelle et dans son tiers postérieur, peuvent se montrer des masses foncées de volume variable, capables de faire une saillie de plus en plus forte et de s'accumuler en un point pour s'étirer ensuite et donner naissance à un nouveau flagelle (fig. 37); 4° une formation rhizoplastique nette est constatable, comme dans la figure 34, et elle paraît susceptible de donner naissance à une petite masse de chromatine d'où part un filament coloré en violet qui se prolonge plus ou moins dans le protoplasma (fig. 52) et qui est susceptible de donner naissance à un véritable flagelle ondulé dépendant du flagelle primitif (fig. 19); dans la figure 37 où l'on assiste très vraisemblablement à une division transversale du trypanosome, les corps chromatiques transversaux jouent le rôle de micronuclei tandis que les corps longitudinaux qui s'étirent de plus en plus pourraient participer à la formation du flagelle; mais ce n'est la qu'une hypothèse; 5° chez de nombreux trypanosomes, nous avons vu que le protoplasma pouvait être parcouru, le long du bord convexe de l'endoplasme, par des grains de chromatine disposés en ligne et partis du noyau dépourvu de membrane pour aboutir à la région centrosomique. Dans les figures 18 et 21, par exemple, ce chapelet de chromatine paraît être bien formé par la sortie des corpuscules du macronucleus et a la signification d'un réticulum chromidial qui émigre du macro vers le micronucleus; il semble bien que cette ligne de grannulations chromatiques puisse être, dans certains cas, l'origine du flagelle. Il nous paraît donc comme très probable que le flagelle tire son origine de la substance chromatique tandis que l'ectoplasma s'épaissit en bourrelet.

4° *Division du Cytoplasme.* — Les auteurs qui se sont occupé du mode de division du protoplasme ont note une division en longueur, une division transversale et une division par segmentation. Ces divisions sont précédées par une hypertrophie considérable du Cytoplasme.

La division en longueur peut débuter aussi bien par une extrémité que par l'autre. Nous n'avons pas observé la division complète du parasite mais nous avons noté son début au niveau de l'extrémité dite postérieure: au dessous de l'étranglement qui marque la base du bec et sur le bord opposé au flagelle. On observe une petite saillie de l'ectoplasme (a, fig. 32); cette saillie se marque de plus

en plus, s'effile en forme de bec (x, fig. 24) tandis qu'une dépression de plus en plus marquée de creuse entre ce dernier et le bec primitif.

Dans la division transversale, il se fait une dépression des bords ectoplastiques autour d'nne série de formations chromatiques placées, dans la longueur du trypanosome (fig. 27, 41).

Nous n'avons pas observé de division uette par segmentatiou, mais les formations chromatiques en rosette doivent sans doute précéder cette division. Nons de vous signaler tontefois de véritables formes amiboïdes, en circulation dans le sang et qui doivent provenir d'une divisiou par segmentation. Ces formes on été décrites par Rabinowitsch et Kempner, par Plimmer et Bradford. Nous n'en avons trouvé qu'une fois au contact d'un globule rouge sons l'aspect d'une masse amiboïde irrégulièrement arrondie colorée en bleu de ciel et renfermant des corps chromatiques arrondis. Nous avons constaté en outre dans le protoplasma de qnelques grands mononucléaires, 6 à 8 corpuscnles colorés en violet noir, entonrés d'une belle zône hyaline ronde, et ne présentant ancnne trace de dégénérescence.

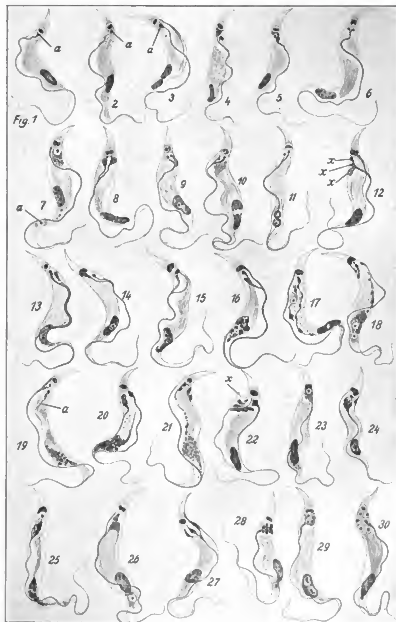
5° *Accouplement.* — D'après Plimmer et Bradford il se fait une copulation réelle de deux parasites par leur réunion par l'extrêmité postérieure. Cette réunion apparaît à Laveran et Mesnil comme un phénomène d'agglutination qui ne se prodnit qne lorsqne les trypanosomes sont placés dans les circonstances de favorables et „ne s'observe jamais dans le sang pur et frais", l'adhérence étant toutefois suffisamment forte ponr résister à un étalement snr lamelles.

Nous n'avons observé qne deux fois la réunion de deux trypanosomes par leur extrêmité postérieure et il s'agissait de sang prélevé immédiatement an sortir de la veine et rapidement étaté.

C'était bien une réuniou de deux parasites dans du sang frais et pur, pour l'explication de laquelle il n'était pas possible de faire intervenir une action défavorable antérieure. D'ailleurs il ne s'agissait pas ici d'un simple contact par la pointe du bec toujours effilé, mais il y avait conjugaison véritable, fusion totale des deux protoplasmes de sorte qu'à la place du denx becs il y avait un cylindre homogène d'un diamètre égal, dans toute sa longueur, au diamètre de la base des becs (fig. 68).

Chez les trypanosomes accouplés on notait déjà des modifications de la chromatine (fig. 68).

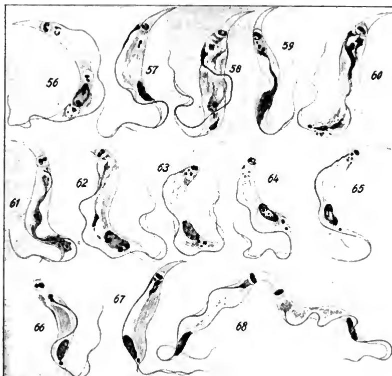
Il y a donc uu accouplement véritable et nons l'avons vu se faire par les extrémités postérieures.



Texteliché I.



Textcliché II.



Textcliché III.

III.

Comparaison avec les Protozoaires flagellés.

Il est intéressant, pour bien préciser la portée des faits que nous venons d'exposer, de comparer ceux-ci aux connaissances acquises dans ces dernières années sur la structure et en particulier sur les modifications nucléaires dans la série des Protozoaires. D'une facon générale on peut dire que, chez tous les protozoaires, il existe une substance kinétique qui est enfermée dans le noyau, et de la quelle dérivent les centres de division tant extra qu'intranucléaires.

Chez les Bactéries, dans les quelles la chromatine est

dispersée à l'état de Chromidium, on voit apparaître, avec la division, un centralkörper volumineux autour duquel se masse la chromatine.

Chez les Sporozoaires, la chromatine se masse davantage autour d'un centre de division et se confond avec lui pour former le Karyosome composé. Par un processus qui est plus qu'une réduction simple, on voit, chez les grégarines, la substance nucléaire sortir du noyau à travers la membrane et aller se condenser dans le plasma pour former des centrosphères qui peuvent le diviser dans le protoplasme (noyaux actifs ou sorte de macronuclei), indépendamment du noyau (restkern jouant le rôle de macronucléus). Le noyau émet donc de petit noyaux actifs qui forment des fuseaux et vont subir à la périphérie une division karyokinetique pour former les sporoblastes. Mais Prowazek n'a observé aucune différenciation centrosomique; les centrosphères résultent de la sortie de la substance nucléaire.[1])

Chez les Héliozoaires, la substance du centre de division diffuse dans le noyau, puis à la période de division il se reforme pour constituer les globules polaires et le fuseau (Actinophrys): la totalité du phénomène est intranucléaire. Mais une partie du contenu nucléaire peut sortir du noyau pour former une figure de division dans le cytoplasme (actinosphærium); ou bien encore, après s'être formé dans le noyau, le centre de division émigre dans le cytoplasme (Acanthocystis). Dans ce dernier cas, il y a donc accumulations polaires extranucléaires semblables aux centrosphères.

Chez les Flagellés, ordinairement le centre de division très net est entouré de chromatine et se divise dans l'intérieur de la membrane nucléaire suivant une figure qui correspond à l'anaphase d'une karyokinèse (Blochmann, Keuten). Le centre de division peut être encore très petit et la chromatine diffuse se masse, au moment de la division, autour de lui, de sorte que le noyau se comporte ici comme un centrosome typique (Tetramitus). Chez d'autres, comme Polytoma, l'innenkörper disparait et il se forme en

[1]) Léger vient d'observer chez les Grégarines (Stylorynchus) deux sortes de noyaux. Le uns volumineux demeurent dans la profondeur du cytoplasme et se divisent par mitoses spéciales (noyau somatiques); les autres plus petits et plus nombreux se multiplient rapidement par mitoses normales, classiques, gagnent la surface (noyaux sexuels définitifs). Si Léger n'a pas observé la première mitose décrite par Cuénot et Siedlecki pour le noyau primitif, il a montré que les noyaux issus de ce dernier se divisent par mitose typique, avec des chromosomes très nets et des différenciations centrosomiques évidentes d'origine intranucléaire.

dedans de la membrane nucléaire, des fuseaux typiques dont chaque pôle présente des corpuscules d'origine intranucléaire. *Ces sortes de centrosomes se rapportent à la formation non seulement du basalkörper voisin du noyau et relié au flagelle par un rhizoplaste, mais, avant la division, ces corpuscules cheminent hors du noyau, se divisent et subissent d'autres modifications difficiles à suivre.* Prowazek a étudié de plus près ces phénomènes: le noyau va vers le basalkörper en suivant le rhizoplaste; puis on voit dans le noyau vésiculeux, en dedans de sa membrane, de petits corpuscules ovoïdes réunis à l'innenkörper par une sorte de pédicule (entosomes). Le noyau augmente, les entosomes se répandent, vont contre la membrane nucléaire et s'entourent quelquefois d'un halo, dans le protoplasma voisin, la membrane nucléaire étant rompue et prête à disparaître. Lorsque la division se fait: l'innenkörper s'éclaircit et produit un fuseau. Le sort ultime des entosomes est inconnu, mais Prowazek pense qu'ils peuvent être assimilés à des structures centrosomales. Un entosome s'observe en effet au voisinage du fuseau paraissant fonctionner comme un centrosome. On voit la grande analogie qu'il y a entre ces phénomènes nucléaires et ceux que nous avons observé chez notre trypanosome: les corps chromatiques aréolés sont comparables aux entosomes et jouent ici un rôle précis de centrosomes.

Au point de vue de la formation des flagelles, Prowazek fait remarquer que chez Entosiphon les flagelles peuvent naître successivement d'un basalkörper unique ou bien se séparer au moment de la division en deux du basalkörper.

Ce n'est qu'après cette division du basalkörper que le noyau se divise; l'innenkörper s'allonge et il se fait une véritable mitose, sans que la membrane nucléaire disparaisse. Le noyau se comporte ici comme un centronucleus.

Chez *Noctiluca*, cette division se rapproche davantage encore de ce que nous avons observé pour le micronucleus de notre trypanosome: le centre de division primitivement intranucléaire devient extranucléaire par expulsion de la substance kinètique du noyau et il se forme, à un certain moment de la mitose, de grandes sphères avec un centrosome qui gouverne cette mitose mais joue aussi le rôle de centre cinètique externe, de sorte que dans ce centrosome se trouvent réunies les deux propriétés de centres cinètiques interne et externe de la cellule.

Nous avons vu que chez notre trypanosome, dans la division karyokinètique du micronucleus, un des centrosomes en rapport avec

la mitose joue le rôle de centre cinètique externe pour le flagelle et l'autre de basalkörper ou de centre cinètique externe pour l'ensemble dn parasite.

Jnsqu'à maintenant, chromatine et centre de division forment deux masses qni se ségrégent d'une façon distincte. Avec Paramœba Eilhardi, on voit, pour la 1e fois, un centre de division retenir avec lui une partie de la chromatine et l'on a ainsi deux masses séparées: l'une, le nebenkörper, qui est le centre de division qni joue le rôle de centre cinètique interne mais qui a gardé avec lui un peu de chromatine et l'autre le noyau proprement dit. Il est très intèressant de constater que le centre de division nait du noyau. Avant la division, en effet, le noyau renfermait rèunis, le grains de chromatine et le centre de division; mais après la division, le centre de division sort du noyan diffusé entrainant avec lui quelques grains de chromatine; le reste de la chromatine qui constitue le noyan diffusé peut être considéré, dès lors, comme un chromidinm formant masse séparée. Le centre de division est donc assimilable au micronuclens des infusoires et la chromatine diffusée au macronucleus. Le micronucleus des ciliés doit par suite être considéré comme étant de la même lignée que les centrosomes, et le geisselwnrzel pourrait être à la fois nn micronucleus et un centrosome, suivant l'hypothèse de Schaudinn.

Le micronncleus serait donc le véritable noyau de la cellule: seul, en effet, il contiendrait à la fois, le centre de division uni à de la chromatine, tandisque le macro ne serait qu'un simple chromidium déponrvu de centre de division. Le micronnclens se divise en effet très nettement par karyokinese; chez Boveria, d'après Stevens, on voit le micronucleus augmenter de volume se diviser en deux valves puis en 4 parties qui s'allongent et forment des chromosomes. Chaque fragment va au contact des parties du macro puis revient à sa position normale; toutefois on n'a pas dècrit de centres de division apparents dans le micronucleus.

Chez notre trypanosomes nous avons montré que non seulement le corps postérieur jouait le rôle de micronucleus. mais encore qu'il renferment un centre de division et de la chromatine et que l'on pouvait observer des centrosomes à chaque pôle des formations mitosiques.

Nous avons vu, d'autre part, que si, à un moment donné, le macronucleus perd sa membrane, si sa chromatine diffuse au point d'émigrer dans toute la longueur du trypanosome pour jouer le rôle

de chromidie, il est indéniable qu'il se prodnit auparavant une émission de corps chromatiqnes et, dans son intérieur, des modifications qui sont en rapport avec l'existence d'un centre de division et permettent de l'assimiler à un nucleocentrosome, de penser même à l'existence de qualités karyokinètiqnes.

Ceci est-il en opposition avec l'idée qn'il faut se faire actuellement dn macronucleus? Les observations de divers auteurs et en particulier celles de Mitrophanow et de ses éléves, laissent penser qu'il existe dans le macronucleus des infusoires des formations qui rappellent de bien près des figures de karyomitose. Si l'on admet qu'il y a des macronuclei qni ont un centre de division il faut donc admettre qu'nne partie de la substance du centre de division est retenue avec la chromatine du macronucleus.

Nos recherches snr le trypanosome du lapiu nous ont montré que le micronucleus et le macronucleus possèdent chacun les attributs complets d'un noyau, le macro enfermant nne masse bien plus volumineuse de chromatine. Le micronuclens qui est susceptible de se diviser plns activement par Karyokinèse et qui parait être le noyau actif, renferme une plus grande qnantité de substance kinètique parcequ'il doit fonrnir des éléments qui joueront le rôle à la fois de centres cinètiques internes et externes et pour le flagelle et pour le corps entier du trypanosome, et qui fourniront, probablement, des centres d'attraction ponr la chromatine du macronucleus diffusé c'est-à dire arrivé au stade de chromidium.

Le macronucleus renferme un centre de division snsceptible de demeurer intrannléaire et de permettre une division directe en deux (centronuclens); ou bien le centre de division peut s'extérioriser sons forme de centrosphères snsceptibles de se porter anx pôles, d'agir comme des centrosomes snr un noyau qui présente une figure bien proche d'nne Karyomitose; enfin les globes ou sphères peuvent être expnlsés du noyau, dans le protoplasma, tandisque la chromatine du macronnclens diffuse et émigre le long de l'endoplasme, laissant des restes qui subissent une degénérescence granuleuse.

Ce sont les rapports entre ces élements qui appartiennent au macro et ceux qui appartiennent au micronucleus qui constituent le problème actuellement important et difficile à résoudre avec précision: les sphères auréolées qui viennent se placer aux pôles du macro et que l'on peut observer en des points variables entre le micro et le macronucleus ne représentent-elles pas des éléments d'origine micronucléaire de sorte que, comme chez la infusoires, le micronuclens jouerait le rôle le centrosome part rapport du macro?

Ou bien, si ces sphères chromatiques naissent réellement du macronucleus comme nos observations le démontrent, qu'il est leur sort ultérieur? Enfin, dans quelle mesure la chromatine diffusée du macronucleus et dont on suit la marche jusque dans la région du micro, s'unit-elle avec des parties émanées du micronucleus pour reconstituer de nouveaux petits et gros noyaux?[1])

Bibliographie.

Calkins: The Protozoan nucleus. Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 213 1903.

Doflein: Die Protozoen als Krankheitserreger. Jena 1901.

Hertwig, R.: Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. I p. 1 1902.

Laveran et Mesnil: Sur la nature centrosomique du corpuscule chromatique postérieur des trypanosomes. C. R. soc. de Biol. 21 Mars 1901.

—: Recherches morphologiques et exp. sur le trypanosome des rats. Ann. de l'Inst. Pasteur XV p. 673 1901.

—: Recherches morph. et expér. sur le trypanosome du Nagana. Ann. Inst. Pasteur. XVI p. 1 1902.

—: Des trypanosomes des poissons. Arch. f. Protistenk. Bd. I p. 475 1902.

Léger: Sur quelques cercomonadines nouvelles ou peu connues parasites de l'intestin des insectes. Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 170 1903.

—: La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protistenk. Bd. III p. 303 1904.

Maier: Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 119 1903.

Mitrophanow: Nouvelles recherches sur l'appareil nucléaire des Paramécies. Arch. de Zool. expér. 1903 Nr. 4 p. 411.

Plimmer and Bradford: Apreliminary note on the morphol. and distribution of the organism found in the tsetse flydisease. Proceed. of the royal Soc. 1899 p. 274.

Paowazek: Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. I p. 297 1902.

—: Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 195 1903.

—: Die Kernteilung des Entosiphon. Ibid. Bd. II p. 324 1903.

Rabinowitsch et Kempner: Beiträge zur Kenntnis des Blutparasiten spez. der Rattentrypanosomen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXX p. 251 1899.

—: Trypanosomen in der Menschen- und Thierpathologie. Centralbl. f. Bakter. XXXIV Nr. 8 p. 813 1903.

---

[1]) Au moment où cet article était envoyé à l'impression nous avons eu connaissance d'un important mémoire de M. F. Schaudinn „Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochæte“ in Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XX H. 3 1904. Il résout la plupart des questions soulevées ici.

SENN: Der gegenwärtige Stand nnserer Kenntnis von den flagellaten Blntparasiten. Arch. f. Protistenk. Bd. I p. 344 1902.
SCHAUDINN: Arbeiten a. d. kaiserl. Gesnndheitsamte. XVIII Heft 3 p. 395 1902.
STASSANO: Contribntion à l'Étnde dn trypanosome. C. R. soc. Biol. p. 1 1901.
—: Sur la fonction de relation dn petit noyan des trypanosomes. Ibid. 1901 Nr. 16.
STEVENS: Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 1 1903.
WASIELEWSKY n. SENN: Beiträge znr Kenntnis der Flagellaten des Rattenblntes. Zeitschr. f. Hyg. n. Infektionskrankh. Bd. XXXIII p. 44 1900.
VIGNON: Arch. de Zool. expér. IX p. 611 1902.

Étude sur la structure, le développement et l'explosion des trichocystes des Paramécies.[1]

Par

P. Mitrophanow (Varsovie).

(Avec 9 figures en texte.)

Chez les Infusoires connus sous le nom de Paramécies (**Paramaecium caudatum**) les trichocystes présentent des organes de défense.

Conformément à l'opinion en vogue ils proviennent de l'ectoplasme et sont logés, d'après DELAGE et HÉROUARD,[2] à moitié dans l'ectoplasme et à moitié dans le plasme cortical (l. c. p. 432). D'après LANG,[3] ils se trouvent dans la couche corticale qu'il considère cependant contrairement aux auteurs que nous venons de citer (l. c. p. 407) comme une partie constitutive de l'ectoplasme (l. c. p. 57, 59); d'après SCHEWIAKOFF (l. c. p. 57), les trichocystes sont habituellement disposés dans l'ectoplasme ou dans le plasme cortical et vu leur

---

[1]) Cet article présente en russe la XXXII livraison des Travaux du Laboratoire Zootomique de l'Université de Varsovie. (Работы изъ Зоотомической лабороваторіи Варш. Универс.)

[2]) JVES DELAGE et E. HÉROUARD. Traité de Zoologie concrète. T. I. 1896. La cellule et les Protozoaires.

[3]) A. LANG. Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere. 2. Aufl., 2. Lief. 1901. Protozoa.

longneur considérable chez quelques nns des Infusoires, tels que les Paramécies, ils pénètrent dans l'entoplasme.[4])

Nons avons en général peu de données sur la structure des trichocystes; quant à lenr origine, leur développement et leur régénération qui succède à leurs explosion dans quelque partie des corps de l'Infusoire, ces phènomênes, autant que je le sais, n'ont jamais été observés.

En faisant des recherches sur l'appareil nucléaire des Paramécies j'ai été frappé sur nne série de préparations (coupes) par la coloration vive et elective des trichocystes. J'ai eu l'occasion[5]) de représenter une de ces préparations, ayant marqué en même temps le mode de formation des trichocystes (l. c. p. 422, fig. 14).

Dans le cas présent deux questions doivent être résolues: d'abord, les trichocystes se développent-ils primitivement in loco, dans l'ectoplasme (d'accord avec Lang, j'y rapporte la conche corticale); puis, d'où apparaissent-ils de nouveau dans les endroits où lenr explosion a déjà eu lieu.

Pour le moment, on ne peut pas encore donner de réponse directe à la première question qui doit être résolue an moyen de l'étnde du developpement d'un individn séparé; mais elle est en connexion intime avec la seconde et c'est bien possible qn'il n'y ait qu'nne réponse générale pour les deux questions. Les faits qne j'ai dernièrement observés me semblent donner une réponse éclaircissant en tout cas d'nne manière satisfaisante la seconde des questions indiquées. En voilà: d'abord, à part les trichocystes vivement colorés dans l'ectoplasme et disposés régulièrement, j'observais des formations pareilles dans l'entoplasme, immédiatement sous celles pui occupaient la couche corticale; puis, on observait plus près du noyau des formations à la même coloration caractéristique, mais de forme diverse, et ce n'était pas difficile de trouver toute nne rangée, en commençant par le grain arrondi jnsqu'au bâtonnet étendu pareil au trichocyste typiqne. Le dessin que j'ai indiqué et que je reproduis actuellement (fig. 1) donne uue idée assez jnste du caractère général du tableau et il ne me reste au fait que d'éclaircir quelques détails et de leur donner l'éxplication nécessaire.

---

[4]) В. Т. Шевяковъ. Организація и систематика *Infusoria Aspirotricha.* Записки И. Академія Наукъ, VIII серія. Физикоматем. отд. Т. IV, Nr. 1. 1896. W. Schewiakoff. L'organisation et le système des Infusoires Aspirotriches. Mémoires de l'Acad. de St. Petersbourg.

[5]) P. Mitrophanow. Nouvelles recherches sur l'appareil nucléaire des Paramécies. Archives de Zoologie expérim. 1903.

La constitution de l'ectoplasme apparait sur les préparations que nous décrivons sous l'aspect suivant:

a) *Pellicule* — en forme d'une membrane très mince, intimement liée à la couche alvéolaire; sa surface extérieure est inégale; il y a des rangées de raies et un dessin assez régulier et très tendre

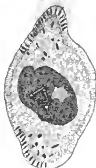


Fig. 1.
Coupe oblique d'une Paramécie. Sublimé; coloration par la carmin alnné, puis par le haematoxylin de Heidenhain et la safranine.[1]) × 500. On voit dans l'entoplasme la formation des trichocystes.



Fig. 2.
Coupe en partie verticale, en partie horizontale.
pe = pellicule, *al* = couche alvéolaire,
en = endoplasme, *co* = corpuscules (grains) basales. × 2500.

(sculpture de la pellicule) avec des épaissements noueux; en coupes, de petites saillies coniques, assez régulièrement disposées présentent l'expression de ce dessin. C'est difficile de dire si toutes ces dernières appartiennent au cils, car ceux ci ne se conservent pas toujours sur les coupes. Ce-la provient, à ce qu'il me paraît, non seulement de la faible coloration de ces derniers, mais aussi parce que lors de conservation ils rétrécissent, sauf ceux qui se trouvent aux bouts de l'Infusoire, et il n'en reste qu'une petite saillie conique. Parmi les inégalités mentionnées de la pellicule ses saillies sont plus considérables et j'ai remarqué à leur base, mais déjà dans la couche alvéolaire, des grains foncés et très régulièrement distribués; sur le dessin de la surface, ces grains correspondent aux épaississements noueux (fig. 2).

La signification de ces grains nous est maintenant claire: ils présentent des points d'appui aux cils et sont d'après la terminologie des citologistes modernes des corpuscules basals (Basalkörperchen), des centrosomes, des centres cinétiques etc.

[1]) Toutes les figures suivantes sont faites d'après les préparations des Paramécies traitées et colorées de la même manière: les lettres d'envoi sont aussi partout les mêmes.

b) La soi-disant *couche alvéolaire* présente sur mes coupes une bande continue, dont l'homogénéité s'interrompt d'abord par la présence des menus grains sus-décrits, disposés à la base des cils; puis elle est finement striée, vu la présence de canalicules très fins dans lesquels s'introduisent les bouts périphériques affilés des trichocystes; on n'observe pas ces canalicules là où pour quelque raison les trichocystes manquent; c'est bien possible que les canalicules n'apparaissent pas préformés, mais sont produits spécialement par les minces bouts des trichocystes qui percent cette couche de l'ectoplasme (fig. 3).

c) La *couche corticale* forme le reste de l'ectoplasme; homogène, elle se détache visiblement chez les Paramécies, étant entièrement occupée par les trichocystes qui forment en masse une rangée régulière. Les bouts centraux des trichocystes déterminent la limite inférieure de cette couche, où l'entoplasme y adhère immédiatement. Si les trichocystes manquent, la limite du plasme cortical s'éfface entièrement du côté de la couche alvéolaire de même que de celui de l'entoplasme, surtout si les vacuoles manquent à cet endroit (fig. 2 et 3). Il est donc évident que la différenciation de l'ectoplasme dans les couches indiquées présente le résultat direct du développement, de la distribution particulière et de la forme des trichocystes.

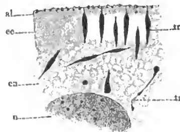


Fig. 3.
Coupe verticale. *ec* = ectoplasme, *n* = macronucleus, *tr* = trichocystes, *tr'* = les mêmes en voie de formation. × 2500. La figure combinée.

Ces derniers, comme nous l'avons dit, se disposent principalement dans le plasme cortical, mais leurs bouts pénètrent d'une part dans la couche alvéolaire; et peuvent aussi entrer dans l'entoplasme (fig. 2 et 3). La première circonstance est due à la forme du bout périphérique, la seconde dépend exclusivement de la grandeur des trichocystes, car quelquesuns, plus grands que les moyens qui déterminent en masse l'épaisseur de la couche corticale, n'y ont pas assez de place et pénètrent plus ou moins dans l'entoplasme. Dans des cas isolés le trichocyste qui s'est formé peut se trouver à moitié dans la couche corticale (fig. 3) et dans l'entoplasme, et être même entièrement disposé dans ce dernier. Alors sa position perpendiculaire

à la surface qu'on observe dans la couche corticale n'est pas de rigueur, mais nous y reviendrons encore.[1])

Sur mes préparations les trichocystes formant des rangées dans la couche corticale ont la forme d'une quenouille dont la partie la plus épaissie est plus près de la surface de l'Infusoire, de sorte que son affilement périphérique forme un angle plus grand et le central un plus petit (fig. 4). Avec des grossissements moins considérables il parait que de lextérieur les trichocystes ne dépassent pas les limites de la couche corticale, mais avec des objectifs plus forts $(^1/_{12})$ on distingue nettement que l'affilement périphérique du trichocyste s'appuyant sur la couche alvéolaire en bas, s'y prolonge en forme d'un mince fil; c'est plus rare qu'un affilement pareil lui-même pénètre jusqu'au milieu de la couche alvéolaire (fig. 4, *A*). Ces bouts en forme de fils des trichocystes canalisent la ci-nommée couche alvéolaire en y pénétrant et la rendent striée; il me paraissait quelquefois que ces bouts se prolongent au delà des limites de l'Infusoire où c'est facile de les confondre avec les fils expulsés des trichocystes.

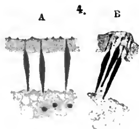


Fig. 4.
Position des trichocystes dans les couches corticale et alvéolaire. $\times$ 4000. *A* = coupe verticale; on voit dans l'entoplasme des grains bien colorés. *B* = coupe oblique; on voit les bouts periphériques des trichocystes avec des epaississements.

C'est alors que surgit la question de la manière d'agir des trichocystes et de leurs changements lors de l'explosion.

Par analogie avec les nématocystes des Cnidaria on pourrait y supposer une structure intérieure plus compliquée; pourtant leurs dimensions peu considérables et l'homogénéité de leur masse exigent qu'on soit prudent par rapport à une pareille supposition dans tous les cas que nous connaissons.

---

[1]) Après avoir déjà fini cet article, j'ai reçu le travail de H. N. Maier „Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien". Archiv f. Protistenkunde. II. Bd. 1903. L'auteur, dont la méthode de recherche était semblable à la mienne, donne entre autres, quelques détails de structure des trichocystes des Paramécies; il marque les changement de leur forme (l. c. p. 95) et les représente aussi dans l'entoplasme (l. c. pl. 3, fig. 6 b).

Les résultats de mes observations ont été exposés pour la première fois à la séance de la Séction de biologie de la Societé des Naturalistes de Varsovie le 30 Septembre 1903.

Si l'on abdique de point de vue établi suivant leqnel le trichocyste est un organoïde morphologiquement constant, vu les détails que j'ai donnés, on peut facilement comprendre le fait si étrange au premier abord que le trichocyste en forme de quenouille qui subit une explosion en cas d'excitation devient un fil mince et homogène. Ce point de vue est appuyé, d'une part, par l'analogie qui se présente d'elle même avec les nématocystes, et d'autre part par une certaine constance morphologique: on les décrit même chez les Infusoires vivants comme des bâtonnets, et sur les préparations fixées à coloration élective c'est encore mieux fondé; j'ai vu mainte fois sur mes coupes comme une partie des trichocystes se déplaçait, sans contredit mécaniquement, au moyen d'un couteau, ou bien se séparait même entièrement du protoplasme. Tout cela semble parler en faveur de l'idée exprimée et prouve cependant une seule chose c'est que la matière du trichocyste se détache à l'état naturel du protoplasme environnant par suite de sa réfraction plus considérable, qu'elle est bien localisée, que les réactifs qui la fixent la rendent plus compacte et qu'elle se colorie électivement.

Déjà Verworn[1]) a exprimé l'opinion que les fils provenant des trichocystes présentent des filets du liquide qui sort par suite de la contraction de la couche extérieure du corps et se condense au contact de l'eau.

Voici ma conclusion relative à la nature des trichocystes: ce ne sont pas des organoïdes dans le sens de la séparation morphologique, mais plutôt des amas d'une matière à part, ayant les qualités énumérées, se rassemblant en quantité déterminée et dans les cavités de forme permanente de la couche corticale, cavités qui communiquent avec le milieu extérieur au moyen de canalicules pénétrant la couche alvéolaire. De ce point de vue on peut admettre une analogie complète entre le trichocyste et la vacuole contracte (fig. 5); la différence se détermine par les dimensions, la position et le caractère de la secrétion.

5.

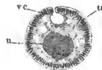


Fig. 5.
Coupe d'un bout de Paramécie. On voit la vacuole pulsatile (vc) avec une orifice à l'extérieur.

Je base ma conclusion sur les observations et les combinaisons suivantes: 1. non seulement la matière du trichocyste atteint par les canalicules mentionnés de la couche alvéolaire la surface du corps,

[1]) Cité d'après Lang (l. c. p. 59).

mais se continue encore en fil en partie déjà expulsé (fig. 6, *a*, *f*); 2. elle peut entrer dans la couche alvéolaire en semblant élargir le canalicule habituellement étroit (fig. 4, *A*, fig. 6); 3. le bout de l'affilement périphérique du trichocyste peut former sur la surface du corps un genre d'épaississement en forme d'épingle (fig. 4, *B*);

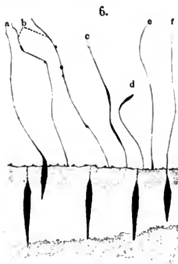


Fig. 6.

L'ectoplasme avec les trichocystes de différente grandeur; les diverses formes des fils expulsés et leur rélations aux trichocystes. *a* = demi expulsé, *b* = avec des renflements noueux; *c* et *d* = autres formes de renflements; *e* = fil epaissi à la base; *f* = fil expulsé en connexion avec le trichocyste. × 5000. La figure combinée.

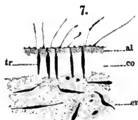


Fig. 7.

Coupe verticale. Différentes phases de formation des trichocystes et differentes formes de fils expulsés. × 2500. La figure combinée.

4. j'ai observé des cas où tout le trichocyste à l'aspect un peu changé, pénètre la couche alvéolaire, tandis que son bout inférieur reste encore dans le plasme cortical (fig. 6, *a*) et le bout périphérique, ressortant déjà à l'éxterieur, se prolonge en un long fil analogue aux fils expulsés qu'on observe à l'ordinaire; 5. les fils expulsés conservent quelquefois à l'endroit où ils sortent des épaississements noueux coloriés de même que la matière des trichocyste (fig. 6, *e*; fig. 7), tandis que ces derniers manquent complètement dans cette région; 6. on observe souvent de pareils épaississements noueux le long du fil (fig. 6, *b*, *c*; fig. 7) ainsi qu'à son bout (fig. 6, *a*) comme nous le voyons sur le dessin connu de Maupas [1]) qui représente évidemment une modification et non une forme constante du fil expulsé du

[1]) Voir Delage et Hérouard. l. c. fig. 716; Lang l. c. fig. 80, *C*.

trichocyste; 7. la longueur des fils expulsés est très variée et peut atteindre les dimensions du diamètre transversal de tout l'Infusoire; de même les dimensions des trichocystes dans le corps de l'Infusoire, déterminées par celles du plus grand nombre (l'épaisseur de la couche corticale) sont soumises dans les cas particuliers à de grandes vacillations dans les deux directions: on peut voir à côté des trichocystes surpassant deux fois l'épaisseur de la couche corticale et d'autres qui sont à moitié plus courts (fig. 6); 8. l'épaisseur des fils en tout cas fort peu considérable, dépend de leur longueur; le diamètre du fil paraît en général constant, mais on peut voir souvent sur son étendue des épaississements locaux considérables (fig. 6, *e*, *d*).

La plupart des observations énumérées serait inexplicable si l'on admet que le trichocyste présente petit bâton ou bien en général un corps plus ou moins compact sans y admettre pourtant une structure compliquée, mais imperceptible.[1])

Ces observations deviennent pourtant tout à fait claires si l'on admet que le trichocyste est formé de la cavité de la couche corticale étendue et communiquant avec le milieu extérieur, remplie d'une matière à demi liquide, transparente, homogène, dépourvue de structure, très réfractaire, se condensant lors du fixage, insoluble dans l'eau et s'empreignant facilement de quelques couleurs.

De ce point de vue le mécanisme de l'explosion et de la formation du fil est très simple: c'est un procès de la pression ou d'expulsion sous l'influence de la contraction de la couche corticale, d'une matière gluante et ductile, se trouvant déjà dans les cavités qui le renferment sous l'influence d'une pression intérieure, insuffisante pourtant pour le faire sortir dans les conditions normales à l'extérieur par les canalicules de la couche alvéolaire. La forme qu'acquiert la matière rejaillie en passant par une fine ouverture dépend aussi de la force de la contraction: lors d'une contraction forte et soudaine un long fil mince et droit se forme; si la contraction est plus faible, il y en a un plus court et plus épais qui peut avoir à un bout un noeud, formé par une partie de la matière expulsée, comme on le voit sur le dessin de Maupas.

Les bouts antérieurs recourbés, comme les représente Schewiakoff (l. c. p. 58, pl. VII, f. 191, *B*) peuvent se former si le bout a déjà touché quelque corps dur (sur la préparation par ex. la surface du verre), tandis que l'explosion ne s'est pas encore achevée, et le fil s'est ainsi replié au bout. Lors de l'affaiblissement de la couche

---

[1]) Voir Schewiakoff, l. c. p. 58.

alvéolaire (ce qui est possible au moyen de faibles agents chimiques, sous l'influence d'un faible courant galvanique, d'une température légèrement élévée etc.) le contenu du trichocyste peut ressortir seulement en partie, et c'est ainsi que s'expliquent les exemples énumérées 1—4 et représentés sur les dessins 4, 6 et 7. Si la contraction est inégale, le fil expulsé l'est aussi, ce qui dépend certainement aussi de l'état du canalicule, par lequel la matière du trichocyste est expulsée.

Son état à moitié liquide et visqueu explique parfaitement la connexion du fil qui n'est pas encore entièrement expulsé (fig. 6) avec le reste du trichocyste dans le corps de l'Infusoire; à propos, nous en avons un exemple dans de données comparées: chez Dileptus les trichocystes lors de l'explosion ne sont pas entièrement expulsées du corps, tout en acquérant une longueur considérable.[1])

Sur mes préparations la paleur des fils lors de l'intense coloration simultanée des trichocystes s'explique exclusivement par la finesse des fils; mais dès qu'on y aperçoit des épaississements locaux, des noeuds, des renflements aux bouts ou à la base, ces formations acquièrent la même coloration caractéristique propre aux trichocystes (fig. 6 et 7).

La droiture du fil qui vient d'être expulsé est le résultat de l'effort qui a accompagné l'explosion: sur les préparations qui ont été soumises à des manipulations postérieures compliquées, les fils insolubles dans l'eau et denses ont une direction très variée.

La mobilité de la matière des trichocystes éxplique facilement les changements de leur forme. Ayant à l'état vivant l'aspect de formations comparativement grosses et pareilles à des quenoilles, ils acquièrent l'aspect de batons assez fins sur nos préparations après l'action du sublimé et les manipulations suivantes. Sur les préparations des Paramécie qui ont subi des changements de température considérables ils sont beaucoup plus minces et ressortent faiblement. C'est de cela que dépend peu-têtre la variété relative des trichocystes chez différents Infusoires.[2])

Ainsi les trichocystes présentent des formations de nature secrétive.

D'où provient le matériel de la secrétion? Comment se forme la matière des trichocystes?

[1]) Schewiakoff, l. c. p. 58
[2]) Schewiakoff, l. c. p. 57.

Mes observations brièvement exposées plus haut et reproduites sommairement sur la fig. 1 (p. 80) donnent une réponse à ces questions.

Quoique on n'observe l'explosion en masse des trichocystes que sous l'influence de quelque impulsion générale et considérable, leur explosion partielle a lieu, à ce qu'il paraît, lors d'une excitation locale peu considérable; il suffit du moindre coup de la part d'un autre corps et on voit déjà à l'endroit du contact des fils expulsés. Il y a tant de cas pareils dans la vie d'une Paramécie que l'explosion des trichocystes doit présenter un procès vital permanent et leur remplacement doit avoir lieu continuellement.

C'est ce qui paraît s'accomplir en réalité. En étudiant la disposition normale des trichocystes nous avons noté qu'en particulier plusieurs d'entre eux ressortent par leurs bouts intérieurs dans l'entoplasme,[1]) et on l'observe non seulement dans les cas quand le trichocyste dépasse par sa longueur le plasme cortical, mais plus souvent quand son bout périphérique lors de sa longueur moyenne n'atteint pas la couche alvéolaire et s'introduit à moitié ou moins dans le plasme cortical (fig. 3, p. 81). Ces cas mêmes font supposer que les trichocystes pénètrent dans le plasme cortical de l'entoplasme.

Les observations ultérieures confirment entièrement cette supposition: vu la coloration caractéristique des trichocystes sur nos préparations, c'était facile de remarquer qu'à part ceux qui s'introduisent à peine dans la couche corticale (fig. 2 et 3) il y a immédiatement au dessous dans l'entoplasme de pareils dont la position marque qu'ils sont tout prêts à se transférer dans la couche corticale; même l'affilement périphérique prend une direction perpendiculaire à la surface (fig. 7). On remarque à côté des formations ayant l'aspect de petits bâtons, dont la forme et la coloration sont pareilles à celles des trichocystes, mais qui en diffèrent dans les détails par les dimensions et la configuration des bouts. Si l'on considère les trichocystes comme des formations morphologiquement achevées, ces déviations rendent leur analogie complète difficile; tandis que de notre point de vue ces difficultés s'aplanissent, car d'un côté il est facile d'établir la suite des changements et d'autre part, comme nous l'avons indiqué, les trichocystes mêmes peuvent avoir dans le plasme cortical un caractère variable.

C'est une règle générale que les formations pareilles aux trichocystes sont d'autant plus variables qu'elles se trouvent plus loin de la couche corticale et plus près du noyau dans l'entoplasme

[1]) Le même ibid.

(fig. 3 et 7). Voici les principaux changements: les deux bouts sont très affilés, et considérablement étendus; un bout est plus gros et contrairement aux trichocystes de la couche corticale il est habituellement le plus rapproché du noyau, tandis que celui qui est dirigé vers la périphérie est plns mince; deux bâtonnets pareilles à des quenouilles aux obuts affilés sont unis l'un à lantre et forment un tout; en conservant la forme à quenouille, ces formations ont une longueur différente et on peut trouver une rangée successive depuis les grains sphériques dont le diamètre égale l'épaisseur des trichocyste, et de petits bâtons très conrts, jusqu'aux trichocystes normaux; étant pareilles à ces derniers, les formations entoplasmiques peuvent être plus ou moins courbées; dans d'autres cas elles ont le caractère d'une virgule (fig. 3) etc.

La variété se complique par la différente position des trichocystes; immédiatement sous la couche corticale ces formations ont souvent une position parallèle à la surface des corps; pour celles qni se trouvent à nne plus grande profondeur on peut remarquer en général une direction radiale au noyau et perpendiculaire à la surface.

C'est particulièrement évident dans les cas où une excitation générale amène l'explosion des trichocystes sur nne surface considérable du corps de l'Infusoire. Nous voyons sur la fig. 8 un bout d'une Paramécie sans trichocystes dont les fils forment autour de lui une couronne régulière; à côté sur les parties latérales les trichocystes ont conservé leur position normale. On voit dans l'entoplasme des formations pareilles à des trichocystes particulièrement dans la direction même du noyau à l'endroit où les trichocystes sont expulsés; conformément à cette direction se détermine la position de la plûpart entre eux.

8.

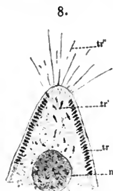


Fig. 8.
Bout d'une Paramécie avec des trichocystes expulsés (tr''); à l'entoplasme — les trichocystes (tr') qui se forment et sont en voie vers la place libre.

A part les formations qui peuvent être dans une rangée successive rattachées d'une manière ou d'nne autre aux trichocystes, on observe dans l'entoplasme beaucoup de grains de la même coloration et de grandeur et de structure différente. Vu leurs dimensions minimales c'est difficile de les considérer

comme appartenant à la même catégorie, mais c'est incontestable qu'un grand nombre d'entre eux se trouve en rapporte génétique avec les formations pareilles aux trichocystes et par conséquent aux trichocystes mêmes. De tels grains sont particuliérement abondants et variés prés du noyau (fig. 3). mais quelqnes uns ont une disposition permanente immédiatement sous le plasme cortical (fig. 4, *A* p. 82).

Pour le moment il est certainement difficile d'établir la genèse de la matiére des trichocystes, mais son chemin général est clair. Cette matiére s'élabore dans l'entoplasme et apparamment d'abord autour du noyau; à mesnre de l'éloignement de ce dernier vers la périphérie, elle acquiert graduellement la forme qui se rapproche de plus en plus du trichocyste normal, se dispose définitivement sons le plasme cortical et y pénètre peu à peu, formant dans une disposition réguliére des organoïdes originaux servant à la défense de l'Infusoire (fig. 3 et 7).

La forme et la disposition des trichocystes dépendent des propriétés de leur matiére et de leur maniére de deplacement dans le corps de l'Infusoire, de même qne de la structure du plasme cortical. Comme dans les endroits d'où les trichocystes sont expulsés il ne reste ancnne trace d'nne structnre spéciale, fait qui, disons le en passant, serait obligatoire si les trichocystes avaient une structure morphologiquement déterminée, on peut supposer que les cavités remplies par la matière des trichocystes, ne sont pas préformées, mais se forment chaque fois, de même que les canalicules dans la couche alvéolaire par lesquels s'accomplit l'explosion et la formation du fil.

Comme preuves confirmant la conclusion suivant laquelle les formes typiqnes et la distribution réguliére des trichocystes dépendent de la structure normale dn protoplasme de l'Infusoire, citons l'observation mentionnée sur les variations de la température (et par conséquent le changement général des conditions de la vie) qui amènent un changement du caractère des trichocystes, et puis la préparation dont voici la description.

L'Infusoire (peut-être Paramaecium bursaria; c'est impossible de le savoir au juste snr la préparation) était trés infecté par des organismes menus qui acquirent sur la préparation (fig. 9) une coloration intense; à en juger d'aprés l'echancrure claire caractéristiqne ce sont probablement les Zoochlorellae. Ce qui nous importe dans ce cas c'est le fait même de infection; et comme la composition du corps de l'Infusoire a beaucoup changé, il est évident que la présence de ces hôtes ne lui est pas propice. Le plasme cortical est faiblement séparé, presque partout il passe imperceptible-

ment dans l'entoplasme vacuolisé; de même la couche alvéolaire ne ressort qu'a certains endroits. Les parasites n'occupent que le plasme cortical peu dense; ils sont de grandeur différente et leur distribution donne un aspect original à la préparation. Seul, un petit nombre de trichocystes occupe une position normale et notamment aux endroits où la couche alvéolaire se détache et le plasme cortical a un caractère plus normal. La plupart des trichocystes cependant sont dispersés au hazard et surtout dans l'entoplasme et à un nombre si considérable comme on ne les y observe pas dans des conditions normales. L'aspect même des trichocystes y est un tout autre que de coutume: ils sont fins, pareils à des bâtonnets et généralement privés des affilements caractéristiques des bouts. Un tel changement de forme et de disposition lors du caractère secrétoire des trichocystes que nous avons déterminé, est le résnltat direct du dérangement de l'état normal du protoplasme de l'Infusoire, due à la présence des parasites. Je doute dans ce cas du caractère symbiotique de ces derniers.

9.

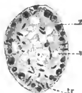


Fig. 9.
Coupe d'une Paramécie avec des organismes parasitaires (z). On voit à l'entoplasme de vacuoles (v) et de trichocystes disseminées et modifiées. × 500.

Suivant les faits exposés les trichocystes peuvent être considérés comme des appareils secrétoires et leur mode d'action comme l'explosion de leur contenu sous l'influence de la contraction de l'entoplasme; la formation des fils après cette explosion est due à la composition particulière de là matière des trichocystes qui ne se dissout pas dans l'eau et y acquiert au contraire une densité plus considérable.

Le matériel dont se forme la matière des trichocystes s'élabore dans l'entoplasme près du noyau, d'abord apparemment sous l'aspect de grains ou sous une forme en général peu déterminée. Seulement à mesure du rapprochement de la surface du corps la forme de cette matière devient plus constante, pareille à une quenouille et c'est sous cet aspect déjà qu'elle pénètre dans le plasme cortical et y forme le trichocyste.

Ainsi la formation ectoplasmatique a dans ce cas une origine entoplasmatique.

Le noyau prend-il part à l'élaboration du matérial pour la matière des trichocystes? C'est difficile de donner une réponse déterminée à cette question. A ce qu'il paraît, la réponse doit être positive, car on peut observer sur les préparations que nous décrivons (fig. 3 p. 81) à part les grains disposés dans l'entoplasme autour du noyau et colorés de même que la matière des trichocystes, d'autres petits grains de coloration analogue et au dedans de grand noyau (macronucleus).

Vu l'intensité de la coloration et les dimensions généralement minimales il est pourtant difficile dans ce cas de les distinguer des grains de chromatine, et cette question reste encore à résoudre.

Myxobakterien-Studien.

Von

Erwin Baur (Berlin).

(Hierzu Tafel IV und 3 Textfiguren.)

Nachdem schon früher wiederholt einzelne Myxobakterien von verschiedenen Forschern [1]) beschrieben, mit Ausnahme von Schroeter aber nicht als das erkannt worden waren, was sie wirklich sind, nämlich hochentwickelte Schizophyten, gab im Jahre 1892 Thaxter[2]) zum ersten Male eine eingehende Schilderung des Entwicklungsganges dieser merkwürdigen Organismen; er beschrieb eine ganze Reihe verschiedener Arten aus drei Gattungen.

Auffälligerweise blieb diese erste Mitteilung sehr wenig beachtet, und so kam es, daß im Jahre 1896 Zukal [3]) den schon von Berkeley und Thaxter beobachteten Chondromyces crocatus als einen neuen Myxomyceten: Myxobotrys variabilis beschreiben konnte.

Auf Thaxter's Arbeit aufmerksam gemacht, verharrte Zukal trotzdem noch anfangs bei seiner Ansicht, er habe es mit einem Myxomyceten zu tun. [4]) Später jedoch erkannte er seinen Irrtum

---

[1]) Link, Dissertationes botanicae. 1795 (pag. 42 Polyangium vitellinum als Gasteromycet). — Berkeley, Introduct. to Cryptogam. Botany. London, 1857 (pag. 313 Chondromyces crocatus als Hyphomycet, Chondromyces aurantiacus als Stigmatella). — Schröter, Cryptogamenflora von Schlesien III (pag. 170 Cystobacter = Polyangium bezw. Chondromyces.)

[2]) Thaxter, R., On the Myxobacteriaceae a new order of Schizomycetes. Botanic. Gazette 1892. 17, 389.

[3]) Zukal, Myxobotrys variabilis als Repräsentant einer neuen Myxomycetengattung. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1896. Bd. 14 p. 340.

[4]) Zukal, ebenda 1897. Bd. 15 p. 17.

und gab THAXTER Recht.[1]) Ganz wesentlich gefördert wurde dann die Kenntnis der Myxobakterien durch eine zweite Veröffentlichung THAXTER's[2]) aus dem Jahre 1897. THAXTER fügte darin den schon früher beschriebenen eine Anzahl neuer, inzwischen von ihm entdeckter Arten hinzu und berichtete über verschiedene Einzelheiten der Entwicklungsgeschichte genauer und richtiger, als in der ersten Arbeit.

Es dürfte nun wohl nicht oft vorkommen, daß eine von verschiedenen Forschern untersuchte und beschriebene Organismengruppe mit einem so großen Mißtrauen aufgenommen wird, wie es mit den Myxobakterien geschehen ist. In den bakteriologischen Hand- und Lehrbüchern wird die ganze Gruppe meist völlig mit Stillschweigen übergangen, oder höchstens kurz als Organismen von sehr zweifelhafter Stellung erwähnt, von botanischen Werken ganz zu schweigen.

So wird, um nur ein paar Beispiele zu bringen, in ENGLER-PRANTL: Pflanzenfamilien, LEHMANN-NEUMANN: Bakteriologischer Atlas, diese Familie gar nicht genannt, und auch in MIGULA's „System der Bakterien" und in FISCHER's „Bakterien" werden sie nur so nebenher in einem Satze erwähnt.

In einer Arbeit aus jüngster Zeit: ZEDERBAUER, E., „Myxobacteriaceae eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien"[3]) wird gar die Ansicht vertreten, Myxobakterien als selbständige Organismen gäbe es gar nicht, was man bisher als solche beschrieben habe, seien Symbiosen von Fadenpilzen und Bakterien. — Ich bin überzeugt, ZEDERBAUER hat überhaupt nie ein richtiges Myxobacterium gesehen, sonst hätte er eine derartig verkehrte Ansicht ganz unmöglich vertreten können. Die von ihm beschriebenen Organismen mögen ja so etwas, wie eine Symbiose zwischen Fadenpilzen und Bakterien sein, mit den von SCHRÖTER THAXTER, ZUKAL u. a. beobachteten Myxobakterien haben sie aber auch nicht das mindeste zu tun.

Hätten in der Literatur bloß die kurzen Diagnosen SCHRÖTER's und allenfalls auch ZUKAL's Angaben vorgelegen, dann wäre es vielleicht noch zu verstehen gewesen, daß ein Autor eine derartige Ansicht vertreten konnte, aber wo doch ein so zuverlässiger Beobachter wie THAXTER eine ganze Anzahl dieser Organismen in Reinkultur

[1]) ZUKAL, ebenda 1897. Bd. 15 p. 542.

[2]) THAXTER, R., Further observations on the Myxobacteriaceae. Botanical Gazette 1897. Bd. 23 p. 395.

[3]) Sitzungsbericht der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaft zu Wien. Math.-Nat.-Klasse Bd. 112. 1903.

beobachtet und beschrieben hat, wäre Zederbauer doch wohl besser etwas vorsichtiger gewesen.

Nach mehreren Referaten zu schließen, scheinen nun Zederbauer's Vermutungen verschiedentlich ernst genommen und für zutreffend gehalten zu werden. Andere wieder, z. B. Solms in der Botanischen Zeitung taxieren diese Theorie freilich richtiger ein.

Bei dieser Sachlage schien es mir angezeigt, nochmals den Entwicklungsgang einiger Myxobakterien genau zu verfolgen. Sollte es mir gelingen, durch nachstehende Mitteilung den Myxobakterien zur Anerkennung als wirklich existierende, selbständige Organismen zu verhelfen und vor allem die Anregung zu weiteren Untersuchungen zu geben, so wäre mein Zweck erreicht.

Man könnte nach dem Vorstehenden vielleicht vermuten, daß die Myxobakterien seltene und schwierig zu erlangende Organismen wären, das ist aber keineswegs der Fall, sie sind im Gegenteil auch bei uns in Europa sehr verbreitet. Man braucht nur ein Quantum von im Freien gesammeltem, nicht zu frischem Mist von Kuh, Pferd, Kaninchen, Hund usw. in einer feuchten Kammer auszulegen, dann kann man mit ziemlicher Sicherheit darauf rechnen, daß nach einiger Zeit, etwa 8—14 Tage nach dem „Abblühen" der Mucorarten, zum mindesten der eine oder andere Myxococcus sich darauf entwickeln wird. Noch sicherer kann man sich Myxobakterien verschaffen, wenn man die betreffende Mistkultur bei 30—35° C und dunkel hält. Mucor, Pilobolus und viele andere Pilze entwickeln sich dann nicht, oder nur ganz spärlich. Ebenso scheinen auch Myxomyceten und die Amöbenstadien von Acrasieen und anderen Protisten bei dieser Temperatur schon nicht mehr recht zu gedeihen. Die Myxobakterien haben dagegen bei 35° C etwa ihr Temperaturoptimum und gedeihen sehr üppig, sind außerdem unabhängig vom Licht. Man kann daher diese Eigenschaften gleich von vornherein zur elektiven Kultur benutzen.

Hier im botanischen Institut hatte Dr. E. Jahn schon wiederholt Myxococcen gelegentlich auf Mistkulturen beobachtet. Ebenso hatten Prof. O. M. Reinhardt und Dr. Jahn in der Nähe Berlins schon mehrfach Polyangium vitellinum und einen Chondromyces gefunden.

Mir selbst war, bald nach dem Erscheinen der schon genannten Arbeit Zederbauer's, auf einer Kuhmistkultur zufällig ein sehr charakteristischer Myxococcus gekommen, und als ich dann etwas mehr auf ähnliche Organismen achtete und das oben beschriebene elektive Kulturverfahren versuchte, fand ich bald eine ganze Reihe

verschiedener Formen, die teils identisch sind mit den von THAXTER beschriebenen Arten, teils auch zu neuen Spezies gehören. Es sind dies Vertreter der beiden Gattungen Myxococcus und Polyangium (= Cystobacter SCHROET., Myxobacter THAXT.) Eine Art der dritten von THAXTER beschriebenen Gattung, Chondromyces in Kultur zu bekommen, ist mir nicht geglückt. Von Polyangium habe ich zwei, von Myxococcus fünf Spezies rein gezüchtet. Je einen Myxococcus (ruber n. sp.) und ein Polyangium (fuscum [SCHROET.] ZUK.), die sich beide als die geeignetsten „Laboratoriumspflanzen" erwiesen, habe ich dann eingehend untersucht.

I. Morphologie und Entwicklungsgeschichte.

Wie wir schon aus THAXTER's Untersuchungen wissen, haben wir im Entwicklungsgange der Myxobakterien zwei Perioden zu unterscheiden, einen vegetativen Zustand und eine Periode der Fruchtkörperbildung. Im vegetativen Zustande leben die Einzelindividuen mehr oder weniger selbständig und getrennt voneinander. Zu Beginn des Ruhestadiums dagegen sammeln sie sich in ähnlicher Weise, wie es auch die Acrasieenamöben tun, und bilden gemeinschaftliche, mehr oder weniger kompliziert gebaute Fruchtkörper. Im einzelnen zeigen dabei die verschiedenen Gattungen sehr wesentliche Unterschiede.

1. Myxococcus rnber n. sp.[1])

Diese Art war hier im Institute im Februar auf dem Fließpapier aufgetreten, das einer alten Kuhmistkultur als Unterlage diente. Das ganze Papier war wie übersäet mit kleinen, leuchtend roten, halbkugeligen, oder stumpf kegelförmigen Erhebungen von $^1/_4$—$^1/_2$ mm. Durchmesser, den hier sehr einfach gebauten Fruchtkörpern, die in Abständen von 1–3 mm voneinander saßen. Auch später ist mir diese Art auf Hunde- und Damwildmist von Berlin und von Donaueschingen (Schwarzwald) wiederholt gekommen. Die roten, oft ins gelbrote variierenden Fruchtkörper, ebenso, wie die rosa, gelben, grünlichen Fruchtkörper anderer Myxococcen sind so auffällig, daß es ganz wunderbar erscheinen muß, daß Vertreter dieser Gattung bisher nur so selten beobachtet worden sind.[2])

---

[1]) Eine Reinkultur der Species habe ich an die „Zentralstelle für Pilzkulturen" der „Association internationale des botanistes" abgegeben.

[2]) In der Literatur finde ich Angaben nur von THAXTER l. c., ZUKAL l. c., und von A. L. SMITH, Myxobacteria. Journal of Botany 1901.

Durch mehrfach wiederholtes Ausstreichen der die Fruchtkörper zusammensetzenden Sporenmassen auf Mistagar[1]) gelang es bald, Reinkulturen zu bekommen. Auf die Technik der Reinzüchtung komme ich weiter unten nochmals zurück.

Es ist nicht allzuschwer, im hängenden Tropfen den ganzen Entwicklungsgang der Art am lebenden Objekte zu verfolgen, von der Sporenkeimung bis wieder zur Sporen- und Fruchtkörperbildung. Man bringt zu dem Zwecke am besten einige Sporen in einen Tropfen Mistdekokt am Deckglas einer mikroskopischen feuchten Kammer. Es ist zweckmäßig, die Sporen am Deckglase erst antrocknen zu lassen und dann erst den Tropfen darauf zu bringen, damit die Sporen am Glase kleben bleiben und man sie auch mit Systemen von kurzer Brennweite noch beobachten kann. Andernfalls würden sie auf die Unterseite des Hängetropfens sinken und dort mit Immersionssystemen meist nicht mehr erreichbar sein. Ebenso empfiehlt es sich, steril zu arbeiten, da die Beobachtung sonst durch die Entwicklung anderer Bakterien sehr beeinträchtigt wird.

Die frisch ausgesäeten Sporen sind ungefähr rund, von 0,8—1,3 μ Durchmesser. Sie erscheinen als kleine glänzende Kügelchen; irgend welche Struktur ist nicht zu erkennen (Fig. 1 Taf. IV). Mehrere Stunden bleiben die Sporen unverändert; etwa von der fünften Stunde nach der Aussaat an sieht man jedoch an einem Teile der Sporen eine deutliche Veränderung, sie werden größer, 1—1,5 μ, und verlieren ihren Glanz (Fig. 2 Taf. IV). Man kann sich jetzt leicht eine dieser so veränderten Sporen aufs Korn nehmen und ihr weiteres Verhalten verfolgen. In Taf. IV stellen die Figuren 2—6 ein und dieselbe Spore dar. Die Keimung ist danach insofern etwas eigentümlich, als keine Membran zurückgelassen wird. Die Sporenwand wächst vielmehr mit, die Kugel wird ganz allmählich eiförmig und zuletzt zylindrisch mit abgerundeten Enden. Im Innern der keimenden Spore tritt dabei nahe jedem Ende je ein anders lichtbrechendes Körperchen auf, über dessen Natur ich jedoch nichts weiteres angeben kann. In den fertig entwickelten Stäbchen sind diese Körperchen nicht mehr zu sehen.

Die Sporenkeimung unserer Art verläuft demnach ganz wesentlich anders, als bei Myxococcus rubescens. Thaxt. Bei dieser Art ist nach Thaxter[2]) die Keimung schwierig zu verfolgen. Als bestes Verfahren zur Beobachtung der Sporenkeimung empfiehlt er ebenfalls

[1]) Mistabkochung + 2% Agar.

[2]) Thaxter, R., l. c. Botanic. Gazette 1897. 23, 402.

die Kultur am Deckglas einer mikroskopischen feuchten Kammer, er bringt jedoch die Sporen nicht in einen Hängetropfen, sondern bedeckt sie mit geschmolzenem Nähragar, der dann erstarrt die Sporen einschließt. Was diese Methode vor einem einfachen Hängetropfen von Mistwasser für Vorteile haben könnte, ist mir nicht recht ersichtlich. Mir ist es nie gelungen, Sporen von Myxococcus ruber nnd ebenso von drei anderen Myxococcen nach der Thaxter'schen Methode zum Keimen zu bringen.

Thaxter schildert die Keimnng von Myxococcns rubescens folgendermaßen: Das erste Anzeichen der beginnenden Weiterentwicklung ist auch hier eine Volumenznnahme der Sporen. Die Sporenwand erscheint dabei wie angefressen durch Absorption von Innen her. Sie wird so an ein oder zwei umschriebenen Punkten oft verhältnismäßig dünn, an einer solchen dünnen Stelle bildet sich dann eine Vorstülpung nnd man erkennt jetzt deutlich innerhalb der Sporenmembran die Umrisse eines kurzen gedrungenen Stäbchens, welches schließlich aus der Hülle herauskriecht. Die Sporenwand bleibt liegen und verschwindet gewöhnlich bald. — Das wäre also sehr verschieden von dem, was wir bei Myxococcus ruber gesehen haben. Nun ist es ja ganz gut möglich, daß der eine oder andere Myxococcns eine höher und in anderer Richtung hin differenzierte Sporenmembran besitzt, die dann auch einen anderen Keimungsmodus bedingt. Auch innerhalb einer ganz anderen Protistengruppe, die mit den Myxobakterien aber eine gewisse Analogie im Entwicklungsgange zeigt, bei den schon einmal genannten Acrasieen kommen ähnliche Verschiedenheiten der Sporenkeimung vor. Sappinia und Gnttulinopsis haben keine besonders spezialisierte Sporenwand,[1] die Sporen nehmen bei der Keimung ganz allmählich die Form der vegetativen Zellen an. Alle anderen bekannten Acrasieengattungen dagegen keimen unter Zurücklassung einer Membran. Olive[2]) nennt die Sporen vom erstgenannten Keimungstypus Pseudosporen. — Immerhin muß aber eine Nachuntersuchung von Myxococcus rubescens wünschenswert erscheinen. Es ist doch denkbar, daß es sich bei der von Thaxter beobachteten Keimung in Agar um abnorme Vorgänge gehandelt hat.

Bei den Bakterien kommt eine Sporenkeimung, bei der die

[1]) Olive, E. W., Monograph of the Acrasieae. Proc. of the Boston Society of Natural History 30, 451. 1902.

[2]) Olive, l. c. p. 483.

Sporenwand einfach mitwächst, wohl nicht häufig vor. Einer der wenigen dafür bekannten Fälle ist Bacillus leptosporus Klein.[1])

Verfolgen wir danach den Entwicklungsgang von Myxococcus ruber weiter. Wir hatten die Schilderung abgebrochen mit dem in Fig. 5 Taf. IV dargestellten Stadium. Bis dahin sind die jungen Stäbchen unbeweglich. Bald danach fangen sie jedoch an, langsam wegzukriechen. Das in Fig. 6 Taf. IV dargestellte Stäbchen fing zufällig gerade an zu kriechen, als ich mit dem Prisma dieses Stadium zeichnete. Die Bewegung stezt von vornherein gleich mit der maximalen, freilich sehr kleinen Geschwindigkeit ein. In einer Minute wird eine Strecke von 5—10 μ zurückgelegt. Die Bewegung besteht in einem ganz gleichmäßigen Kriechen auf einem festen Gegenstand, Deckglas, oder Oberflächenhäutchen des Hängetropfens. Schwimmen können die Stäbchen nicht. Näheres über Art und Weise dieser Kriechbewegung werde ich weiter unten noch angeben.

Späterhin strecken sich die Stäbchen noch ganz wesentlich, sie werden dabei deutlich schlanker, fertige Stäbchen sind 0,5—0,7 μ dick und 4—10 μ lang.

An gefärbten Präparaten lassen sich auch nicht mehr Einzelheiten erkennen, als am lebenden Objekte. Zur Fixierung verfuhr ich meist so, daß ich eine größere Mengen Sporen in einem Uhrschälchen in Mistwasser zum Keimen brachte und hieraus von Zeit zu Zeit kleine Mengen auf einem Deckglas ausstrich und rasch gerade eben etwas antrocknen ließ. Dann kamen die Deckgläser auf einige Minuten in warmen Sublimat-Alkohol[2]) (2 Teile gesättigte wässerige Lösung von Sublimat und ein Teil Alkohol). Fixieren über der Flamme ist überflüssig und zudem schädlich. Gefärbt habe ich fast nur mit Eisenalaun-Hämatoxylin mit Eosingegenfärbung. Die hellen Polkörper der jungen auskeimenden Stäbchen färben sich mit Hämatoxylin sehr intensiv, außerdem liegen im Plasma der Stäbchen eine wechselnd große Zahl mit Hämatoxylin dunkel gefärbter Körnchen. Weitere Einzelheiten lassen sich wegen des geringen Durchmessers der Stäbchen mit den mir zu Gebote stehenden optischen Mitteln (Zeiss homog. Immers. 3,0 mm 1,30; Okular 18) nicht sicher erkennen.

---

[1]) Klein, L., Botanische Bakterienstudien I. Zentralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde. 6. 1889.

[2]) Schaudinn, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. Archiv für Protistenkunde 1, 312. 1902.

Viele Mühe habe ich darauf verwendet, festzustellen, ob eine vom Plasma leicht abtrennbare Zellwand nachweisbar sei. Durch Plasmolyseversuche ergaben sich keine Anhaltspunkte. Salpeter-, Kochsalz-, Zucker-, Glyzerinlösungen in den verschiedensten Konzentrationen plasmolysieren nicht. Bei Anwendung von Fixierungsflüssigkeiten, die eine Schrumpfung hervorrufen, 80 proz. Alkohol z. B., schrumpft die ja wohl vorhandene Wand ebenfalls mit ein, trennt sich aber nicht sichtbar vom Zellleib.

Auch an nachträglich gefärbten derartigen Präparaten ließ sich keine Ablösung erkennen. Zukal[1]) gibt an, daß die Stäbchen von Chondromyces sich plasmolysieren ließen und zwar „mit denselben wasserentziehenden Mitteln, die A. Fischer in seinen diesbezüglichen Untersuchungen angewendet hat". Ich muß gestehen, ich bin gegen diese Angaben etwas skeptisch.

Farbreaktionen auf Cellulose fielen ebenfalls negativ aus. Daß aber trotz allem dem eine feste Zellwand vorhanden ist, folgt daraus, daß die Stäbchen stets ihre bestimmte Form beibehalten; auch beim Anstoßen an feste Gegenstände, beim Durchkriechen durch enge Öffnungen kommen Stauchungen, Ausbeulungen oder dgl. nicht vor. Dagegen sind die Stäbchen sehr biegsam, aktiv und passiv, man findet oft Stäbchen, die sich bis zum geschlossenen Kreise eingerollt, oder in so spitzem Winkel zusammengefaltet haben, daß sich die beiden Schenkel berühren.

Die Vermehrung der Stäbchen erfolgt ausschließlich durch Querteilung. Es ist nicht leicht, in der Tropfenkultur Teilungsstadien längere Zeit zu verfolgen. Die Bewegung wird von Stäbchen, die sich zur Teilung anschicken, nicht unterbrochen und es ist deswegen bei starker Vergrößerung schwer, ein und dasselbe Stäbchen längere Zeit im Auge zu behalten. Die ganze Teilung habe ich nie am gleichen Individuum verfolgen können, sondern stets nur einzelne Phasen, die sich aber gut ergänzen. Als erstes Anzeichen der beginnenden Teilung zeigt sich an der Stelle der späteren Durchtrennung, also etwa in der Mitte des Stäbchens, ein heller Punkt. Weiterhin erfolgt hier eine allmähliche Einschnürung, bis schließlich die beiden Tochterzellen auseinander reißen. Zur Bildung von Zellreihen kommt es nie, auch nicht in pathologischen und degenerierenden Kulturen. Vom ersten Sichtbarwerden der Einschnürung bis zur Vollendung der Teilung verging in den drei von mir beobachteten Fällen (bei 19° C etwa) ungefähr eine halbe Stunde.

[1]) Zukal l. c. 1897 p. 545.

Wie lange schon vorher das helle Körperchen zu sehen ist, kann ich nicht genau angeben, sicher dauert dieses Stadium länger, als zehn Minuten, solange habe ich wenigstens ein Stäbchen verfolgt, das gerade diesen hellen Fleck zeigte, ohne daß eine wesentliche Änderung zu erkennen gewesen wäre. Nach welchen Zeitabschnitten etwa die Stäbchen sich teilen, weiß ich nicht sicher; nach dem Grade ihrer Vermehrung zu schließen, muß die Teilung etwa alle fünf Stunden erfolgen, wenigstens unter den Bedingungen, wie wir sie bei Kultur im Hängetropfen bei 19° C bieten.

An gefärbten Präparaten zeigt sich, daß der an der Teilungsstelle auftretende helle Fleck Hämatoxylin stark speichert.

Sehr leicht ist bei unserer Art die Sporen- und Fruchtkörperbildung zu verfolgen. Nach der ersten Mitteilung von Thaxter und nach Zukal sollen die Sporen von Myxococcus in der Weise gebildet werden, daß ein Stäbchen sich in eine Anzahl, etwa vier, kugelförmige Segmente teile, die dann Sporencharakter annehmen. In seiner zweiten Mitteilung schildert Thaxter die Sporenbildung ganz wesentlich anders, danach solle sich je ein Stäbchen ganz allmählich abrunden, eiförmig, schließlich kugelig werden und sich mit einer festen Membran umgeben. Am lebenden Objekt verfolgt hat jedoch Thaxter die Sporenbildung nicht. Ich habe das bei Myxococcus ruber wiederholt getan und kann diese letzte Darstellung in jeder Hinsicht bestätigen.

In Kulturen im Hängetropfen beginnt die Sporenbildung gewöhnlich drei bis vier Tage nach der Keimung, irgendwo am Tropfenrande, meist in einer vorspringenden Bucht des Tropfens. Um die eben gebildeten oder noch in Bildung begriffenen Sporen herum sammeln sich vegetative Stäbchen in großer Menge und beginnen ihrerseits ebenfalls mit der Sporenbildung. Man bekommt auf diese Weise Bilder, wie das in Textfig. 3 gezeichnete. Um die fertigen Sporen herum und zwischen ihnen liegen Stäbchen in allen Stadien der Abrundung. Die Sporenbildung ist danach gerade der umgekehrte Vorgang, wie die Keimung. Auch die hellen Polflecke treten wieder auf. In der schon ganz kugeligen jungen Spore vereinigen sich die beiden Flecke. Eine Zeitlang kann man diesen ebenfalls mit Hämatoxylin stark färbbaren Körper noch erkennen. Später, wohl infolge der Wasserabgabe — die Spore wird kleiner — und wohl auch infolge der Differenzierung einer festen Membran, lassen sich Einzelheiten innerhalb der Sporen nicht erkennen. Auch Thaxter hat den dunkler färbbaren Körper in den jungen Sporen bereits gesehen, er spricht von ihm als „nucleus-like body".

Der ganze Umwandlungsprozeß eines Stäbchens in eine Spore dauert etwa 3—4 Stunden.

Wir hätten es nach diesen Beobachtungen mit einer Arthrosporenbildung zu tun, in dem Sinne, wie De Bary das Wort gebrauchte. Die ganze Zelle wird zur Spore, und daß diese runden Gebilde auch physiologisch als Sporen aufzufassen sind, zeigt ihre später noch zu besprechende größere Widerstandsfähigkeit gegen Schädlichkeiten, wie Trockenheit, Hitze usw.

Dadurch, daß um die in Bildung begriffenen Sporen stets neue vegetative Stäbchen sich ansammeln und ebenfalls zu Sporen werden, bilden sich bald, im Verlaufe weniger Stunden große Sporenmassen, die nach einem halben Tage etwa schon mit bloßem Auge erkennbar sind. Untereinander hängen die Sporen durch einen zähen Schleim zusammen. Die Sporenmassen erheben sich schließlich als zähe Tröpfchen über die Unterlage. Zur Ausbildung einer sekundären Membran auf der Außenseite dieses Sporenhäufchens kommt es bei Myxococcus ruber nicht. Wenn er aber unter normalen Bedingungen wächst und die Fruchtkörper mit der Luft in Berührung sind, wird allmählich, besonders in der Peripherie, die Schleimmasse sehr zäh, der ganze Haufen wird soweit fest, daß man diese roten Kügelchen oder Säulchen (Taf. IV Fig. 16) leicht als Ganzes, z. B. mit einer Nadel, abheben kann. Daß unter gewissen Kulturbedingungen ganz abweichende Fruchtkörper gebildet werden, soll später noch besprochen werden.

Die rote Farbe der Sporenhaufen sitzt nicht im Schleim, sondern in der Spore selbst. Die vegetativen Stäbchen sind hell fleischrot. Man kann jedoch bei starker Vergrößerung weder an der einzelnen Spore noch am einzelnen Stäbchen irgend welche Farbe erkennen. Nur wenn man bei schwacher Vergrößerung eine zusammengehäufte Masse von Individuen betrachtet, sieht man die Farbe.

2. Polyangium fuscum (Schroeter) Zukal.

Diese Spezies wurde bereits im Jahre 1886 von Schröter in der Kryptogamenflora von Schlesien als Cystobacter fuscus beschrieben, er hatte sie auf Mistkulturen beobachtet. Eine andere Art der Gattung hatte 1892 Thaxter als Myxobacter aureus beschrieben. Myxobactus aureus ist nun aber, wie Zukal[1]) zuerst erkannt hat, identisch mit einem bereits im Jahre 1795 von Link als Polyangium vitellinum beschriebenen und später auch von anderen Autoren öfters

[1]) Zukal, l. c. 1897 p. 550.

genannten uud abgebildeten Organismns, der freilich von allen diesen nicht richtig erkannt worden war. Teils wnrde er für einen Gasteromyceten, teils für einen Myxomyceten gehalten. Immerhin ist aber gar kein Zweifel, was Link nnd die spätereu Autoren mit ihrer Beschreibung und Abbildung gemeint haben. Myxobacter aureus Thaxter mnß also Polyangium vitellinum Link heißen, Cystobacter fuscus Schroeter, Polyangium fuscum (Schroeter) Zukal.

Diese beiden Polyangien, vitellinnm nnd fuscnm ebenso wie eine dritte, noch nnbeschriebene Art mit kleinen, gelbroten Cysten sind bei nns sehr häufig. Vitellinnm wächst anf sehr fencht liegendem Holz, die anderen beiden auf Mist. Polyangium fuscum ist leicht anf Mistagar zu kultivieren.

Meine Beobachtnngen über den Entwicklungsgang stimmen völlig überein mit denen Thaxter's, ich kann mich daher wohl etwas kurz fassen.

Wie schon von Schroeter und Thaxter festgestellt, kommt es bei der Gattung Polyangium, ebenso wie bei Chondromyces nicht zur Sporenbildung. Zn Beginn des Ruhestadinms sammeln sich die Stäbchen zwar ebenfalls an bestimmten Punkten an, aber sie runden sich nicht völlig ab, sondern werden nur etwas kürzer und dicker, ebenso bilden sie keine andere, festere Membran ans. Dagegen drängen und ballen sich die Stäbchen zn sehr dichten Kngeln zusammen, die bei P. fuscum etwa einen Durchmesser von 200 μ haben. Um diese Kugeln herum bildet sich dann eine feste Membran aus.

Verfolgen wir, von einer derartigen Cyste ansgehend, den Entwicklungsgang ebenfalls wieder im Hängetropfen von Mistdekokt. Etwa 10—12 Stunden nach der Aussaat platzt die Cystenwand nnd ans dem Riß quellen die Stäbchen heraus, anfangs wohl rein passiv. Im Laufe der nächsten Stunden strecken sich dann die Stäbchen ganz wesentlich. In den Cysten sind die Stäbcheu etwa 3—3,5 μ lang 0,8—1,5 μ breit, die entsprechenden Maße der vegetativen Stäbchen sind dagegen 15—20 μ und 0,6—0,8 μ. Bald nach dem Platzeu der Cysten bewegen sich die Stäbcheu schon aktiv und tun dies währeud der ganzen Streckung. Jedoch ist die Bewegung, auch die der fertig entwickelten Stäbcheu wesentlich langsamer, als die von Myxococcus sie beträgt im Hängetropfen meist nur 2—3 μ in der Minute. Auf Agarplatten, wo der Schwarm lockerer ist, als im Hängetropfen, kommen aber auch Geschwindigkeiten von 5—10 μ in der Minute vor.

Das über deu inneren Bau der Stäbchen von Myxococcus Ge-

sagte gilt auch für Polyangium. Die Stähchen sind hier zwar etwas dicker, aber doch noch zu klein, als daß sich mehr Einzelheiten mit Sicherheit erkennen ließen. In den aus einer Cyste herausgeqnetschten verkürzten Stäbchen sieht man öfter einen oder mehrere helle Punkte; an Hämatoxylinpräparaten sind diese gleichen Pnnkte dunkler gefärbt, als der übrige Zellkörper. So scharf umschriebene, distinkt gefärbte, zellkernähnliche Gebilde, wie sie Thaxter für die Cystenstäbchen von Polyangium abhildet, habe ich nie gesehen.

Die aus den Cysten ausgewanderten Stäbchen gedeihen im Hängetropfen nur schlecht, eine deutliche Vermehruug findet nicht statt, die Bewegung ist, wie schon gesagt, sehr langsam, die Stähchen bilden nnter Produktion eines sehr reichlichen zähen Schleimes einen dichtgeschlossenen Schwarm (Fig. 14, Taf. IV) und schon am zweiten Tage beginnt die Bildnng neuer Cysten. An verschiedenen Punkten des Schwarmes zeigen sich dichtere Stäbchenansammlungen (Fig. 15, Taf. IV) und schließlich, nach etwa einem weiteren Tage haben sich fast alle Stäbchen nm diese Zentren gesammelt und bilden festgefügte kugelige Ballen, die in der im übrigen fast stäbchenleeren Schleimmasse liegen. Gelegentlich haben diese Ansammlungen von Stäbchen nicht die Form einzelner Kugeln, sondern bilden unregelmäßige, faltige Wülste. Ganz langsam, im Laufe eines oder mehrerer Tage trennen sich aber die Wülste doch und zerfallen schließlich in einzelne Kugeln. Um jede dieser Kugeln herum, in dem Schleime differenziert sich dann eine braune sehr widerstandsfähige Haut.

Auf anderen Nährhöden, am schönsten auf Mistagar breiten sich die von einer platzenden Cyste auswandernden Stäbchen weit aus, bleiben dabei freilich, wie wir später noch sehen werden stets im geschlossenen Schwarme. Man kann leicht von solchen Agarkulturen kleine Mengen von Stäbchen auf einen Objektträger in Mistwasser bringen und hier die Bewegung und den Verlauf der Teilung beobachten. Etwas wesentlich von Myxococcus abweichendes zeigen aber diese Vorgänge nicht.

Znr Cystenbildung sammeln sich auf Mist- oder Mistagarkulturen gewöhnlich sehr zahlreiche Stäbchen an einem Punkte an und bilden hier bis zu $^3/_4$ mm hohe und ebenso breite unregelmäßige buckelige fleischfarbene Höckerchen. Im Laufe von etwa zwei Tagen ballen sich innerhalb dieser Gebilde die Stäbchen um eine große Zahl sekundärer Zentren zusammen; auf diese Weise kommen dann ganze Häufchen der kugelförmigen Cysten zustande (Fig. 17, Taf. IV).

Untereinander hängen diese Cysten durch kleine Schleimreste ganz lose zusammen.

Soweit die morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Angaben.

II. Physiologische und biologische Beobachtungen.

Über die Physiologie und Biologie der Myxobakterien sind bisher nur sehr spärliche Daten bekannt. Für viele Fragen dürften aber meines Erachtens Vertreter dieser Familie sehr geeignete und stets leicht zu erlangende Versuchsobjekte abgeben. Es schien mir daher zweckmäßig, hier einen kurzen orientierenden Überblick über die Physiologie der Gruppe zu geben. Wo nicht im Texte anders angegeben ist, beziehen sich die nachstehenden Angaben alle auf Myxococcus ruber.

Es wäre hier zunächst die Art und Weise der Bewegung der vegetativen Stäbchen zu besprechen. Die bisherigen Beobachter sind über diesen Punkt alle sehr kurz hinweggegangen. Thaxter[1]) sagt nur, die Bewegung bestehe „in a sliding locomotion in conjunction with a lateral bending“ und ferner: „This bending is doubtless an important factor in the sliding locomotion, which though barely perceptible, can be definitely ascertained by careful watching.“

Wie schon erwähnt, besteht die Bewegung in einem langsamen Kriechen, derart, daß in einer Minute etwa eine Wegstrecke von der eigenen Körperlänge, also etwa 5—10 μ, zurückgelegt wird. Die Bewegung erfolgt ungefähr geradlinig, oder in flachen Kurven (Textfig. 1). Stets ist die Bewegungsrichtung parallel der Längsachse der Stäbchen. Dabei geht nicht immer das gleiche Ende voraus. Wenn man eine Anzahl von Stäbchen mit dem Zeichenprisma verfolgt — anders ist das kaum möglich — so wird man ab und zu einmal ein Stäbchen finden, das kurze Zeit, etwa eine halbe Minute still liegt und dann sich plötzlich mit dem bisherigen Hinterende voran rückwärts bewegt. Ob vielleicht die beiden Enden in gewissem Rhythmus mit dem Vorangehen abwechseln, habe ich nicht feststellen können. Auf alle Fälle kann ein derartiges Abwechseln, wenn es überhaupt da ist, nicht in kleineren Zeiträumen, als eine halbe Stunde erfolgen. So lange habe ich wiederholt Stäbchen sich mit dem gleichen Ende voran bewegen sehen. Eine Umkehr der Bewegungsrichtung erfolgt auch nicht mit einer größeren Regel-

[1]) Thaxter, l. c. 1892 p. 395.

mäßigkeit auf einen äußeren Reiz, Anstoßen an ein Hindernis oder dergleichen.

Dagegen sieht man sehr häufig, daß Stäbchen, die an ein Hindernis angestoßen oder selbst von anderen Stäbchen gerammt worden sind, sich rasch bogenförmig krümmen. Falls sie seitlich getroffen sind, wird die Krümmung meist, nicht immer, konkav nach der gereizten Seite hin. Stäbchen, die sich im dichten Gedränge befinden, biegen und winden sich hin und her und kommen auf diese Weise auch durch stark gekrümmte Öffnungen hindurch.



Fig. 1.
Myxococcus rnber. Wege zweier Stäbchen. Die Zahlen bedenten Minuten. Die Punkte zeigen die Lage des Vorderendes des Stäbchens zu der angeschriebenen Zeit.

Über den Mechanismus der Bewegung habe ich mir keine bestimmte Vorstellung bilden können. Geißeln können schon nach der Bewegungsart nicht in Frage kommen. Trotz sehr oft wiederholter, verschiedener Geißel färbungsverfahren ist es mir nie gelungen, irgend welche Anhängsel, Geißeln oder etwa Psendopodien zn sehen. Auch das Verhalten kleiner Fremdkörper in der Nähe der sich bewegenden Stäbchen gab gar keine Anhaltspnnkte für das Vorhandensein irgend welcher Anhängsel an der Zelle. Gegen eine derartige Annahme spricht auch der Umstand, daß die Stäbchen reichlich Schleim absondern, der unter gewissen Kulturbedingungen sehr zäh sein kann, trotzdem bewegen sich die Stäbchen darin.

Mit den gelegentlichen Krümmungsbewegungen, wie Thaxter vermutet, hängt das Kriechen nicht zusammen. Auch Stäbchen, die sich in keiner Weise krümmen, kriechen; im Gegenteil sieht man an Stäbchen, die gerade eine starke Krümmungsbewegung ausführen, gewöhnlich keine Ortsveränderung.

Eine Frage, die sich beim Gedanken an den ja freilich auch noch nicht aufgeklärten Bewegungsmechanismus der Oscillarien aufdrängt, ist die, ob sich die Stäbchen beim Kriechen um die eigene Achse drehen. Das ist mir nicht wahrscheinlich. Direkt sehen kann man von einer derartigen Drehung nichts, das würde allerdings nicht viel beweisen; dagegen läßt folgende leicht anzustellende Be-

obachtung die Annahme einer Drehnng kaum zulässig erscheinen: Man findet oft Stäbchen, die lange Zeit irgend eine Krümmung festhalten, z. B. eine hackenförmige. Diese Stäbchen zeigen beim Weiterkriechen die Konkavität nun immer nach der gleichen Seite. Fände also wirklich eine Rotation des Stäbchens um seine eigene Achse statt, dann müßte ja auch eine Nutation entgegengesetzt der Rotation und genau mit der gleichen Geschwindigkeit um das Stäbchen herumlaufen, und das ist zum mindesten höchst unwahrscheinlich. —

Die Frage nach dem Bewegungsmechanismns muß also vorläufig noch offen bleiben.

Eigentümlich ist das Verhalten der Stäbchen, wenn sie im hängenden Tropfen am Deckglase kriechend mit einem Ende vom Glase losgekommen sind und sich nnr noch mit einer Stirnseite festhalten. Sie hängen dann in den Tropfen hinein und machen eigentümliche pendelnde Bewegungen, biegen sich auch lebhaft. Meist kommen sie auf diese Weise wieder mit einer Längsseite in Kontakt mit dem Deckglase. Selten nnr beobachtet man, daß in nicht allzudichten Schwärmen ein Stäbchen sich aktiv vom Deckglase abhebt, um über ein anderes im Wege liegendes Stäbchen hinwegzukriechen. Im dichten Gedränge dagegen, z. B. auf Agarkulturen kriechen sie auch über und untereinander weg. Stoßen zwei Stäbchen im lockeren Schwarme zusammen, so erfolgt oft das schon erwähnte Einbiegen, meist aber erfolgt keine besondere Reaktion, ihre weitere Bewegung verläuft nach rein mechanischen Gesetzen, sie bringen sich gegenseitig etwas aus dem Kurse.

Genau ebenso, wie auf festen Gegenständen, kriechen die Stäbchen auch auf dem Oberflächenhäutchen des Hängetropfens und auf etwas fester gewordeneu Partien des eigenen Schleimes. Schwimmen können sie nicht, im Wasser sinken sie anf deu Boden.

Von besonderem Interesse war es mir, festzustellen, ob nnd wie die Bewegnngsrichtung durch äußere Reize beeinflußt würde. Daß mindestens zwei solche Reize eine große Rolle spielen, zeigten schon die ersten Kulturen im Hängetropfen. Die Stäbchen haben nämlich eine ganz ansgesprochene Tendenz, in einem geschlossenen Schwarme zusammen zu bleiben. Am schönsten kann man dies nachweisen, wenn man dafür Sorge trägt, daß in dem Hängetropfen die zur Infektion benntzten Sporen dicht zusammen liegen. Beobachtet man eine derartige Kultur 1—2 Tage nach der Aussaat, so findet man die Stäbchen keineswegs im ganzen Tropfen verteilt, obwohl die Schnelligkeit der Bewegung dazu reichlich ausgereicht haben würde.

Die Stäbchen bilden vielmehr einen geschlossenen Schwarm von ungefähr kreisförmigem Umriß mit ausgezacktem oder gelapptem Rande. Der Umriß des Schwarmes erweitert sich allmählich und zwar rascher, als dies durch die Vermehrung der Stäbchen bedingt würde. Die punktierten Linien in Textfig. 2 geben an, wie rasch sich in den angeschriebenen Zeiten der Rand weitergeschoben hat.

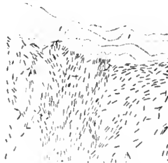


Fig. 2.
Myxococcus ruber. Rand eines Schwarmes am Deckglas einer mikroskopischen feuchten Kammer. Die punktierten Linien geben die Lage des Randes 30 bezw. 60, 90 und 120 Minuten später an.

Innerhalb des Schwarmes ist die Bewegungsrichtung der Stäbchen keineswegs völlig regellos, wie etwa die Bewegung in einem Mückenschwarme. An der in Fig. 2 gezeichneten Stelle eines Schwarmes, z. B. kroch die große Mehrzahl der Stäbchen radialwärts nach der Peripherie hin, um dort nach rechts, bzw. links hin umzubiegen und parallel dem Rande des Schwarmes weiterzukriechen. Dazwischen waren aber auch eine Menge Stäbchen, die kreuz und quer und auch gerade entgegengesetzt zur Richtung der Mehrheit ihres Weges krochen.

Daß die Stäbchen am Schwarmrande in der Mehrzahl parallel diesem eingestellt sind, ist in jungen Schwärmen die Regel. Manchmal beobachtet man, daß Stäbchen, die radialwärts nach außen kriechen, in der Nähe des Randes nicht umbiegen, sondern einen kleinen Vorstoß, 10—20 μ, selten mehr, über den Schwarmrand hinaus machen. Hier hört aber dann das Vorwärtskriechen auf, die Stäbchen, — es handelt sich dabei meist um eine kleine Gruppe von etwa fünf dicht zusammen und parallel miteinander kriechender Individuen — rücken oft eine halbe Stunde lang kaum von der Stelle. Dagegen zeigen sie ziemlich ausgiebige Krümmungsbewegungen, wobei sie öfters sich teilweise vom Deckglase abheben. Schließlich fangen sie dann gewöhnlich an, einzeln rückwärts, mit dem Hinterende voran, in den Schwarm hinein zu kriechen. Ich glaube nicht, daß man diese Umkehr der Bewegungsrichtung als Reaktion auf das Hinausgeraten aus dem Schwarme auffassen darf, da sie keineswegs einigermaßen konstant auftritt, ebenso zeigen ja auch sonst Stäbchen von Zeit zu Zeit eine Umkehr der Bewegungsrichtung.

An üppigen Agarkulturen ist meist der ganze Rand des Schwarmes nicht von vorwiegend tangential kriechenden Stäbchen gebildet, wie im Hängetropfen, sondern hier überwiegen die radial vorstoßenden Stäbchen, die hier besonders deutlich die Krümmungsbewegungen zeigen und sich dabei auch oft teilweise von der Agarfläche abheben.

In Hängetropfenkulturen erreicht der sich ja ziemlich rasch vorschiebende Schwarmrand je nach der Größe des Tropfens früher oder später den Tropfenrand. Über diesen hinaus, auf das trokene Deckglas kriechen die Stäbchen selten und dann fast nur gruppenweise. Gewöhnlich beginnt, bald nachdem die ganze, mit einer Flüssigkeitsschicht bedeckte Deckglasfläche eingenommen ist, irgendwo am Rande und zwar fast stets in einer etwas vorspringenden Bucht des Tropfens die Sporenbildung.

Ganz anders ist das Verhalten der Stäbchen zueinander, wenn die zur Aussaat verwendeten Sporen nicht auf einem bestimmten Punkte des Deckglases beisammen liegen, sondern auf der von der Nährlösung bedeckten Fläche verteilt sind. Es kommt dann nicht zur Schwarmbildung, die Stäbchen verteilen sich gleich im ganzen Hängetropfen, es bilden sich auch nicht etwa kleinere Schwärme um zufällig beisammen liegende, etwas größere Sporenkomplexe, auch dann nicht, wenn nur eine größere Sporengruppe sich am Deckglase befindet und außer dieser noch eine Anzahl frei verteilter Sporen. Die der großen Sporenmasse entstammenden Stäbchen verteilen sich auch in diesen Falle gleich im ganzen Tropfen. Der ganze Tropfen stellt dann einen, allerdings sehr losen, Schwarm dar. Bringt man im Hängetropfen nur an einigen wenigen Stellen jeweils etwas größere Sporenmassen an, die aber nicht allzunahe beieinander liegen — etwa 1 mm Abstand —, aber sonst keine einzelne verteilte Sporen, dann kommt es zur Bildung von zwei oder mehreren Schwärmen, die sich freilich später mit dem Größerwerden vereinigen.

Es bleibt zu besprechen, wie sich dieses Zusammenbleiben der vegetativen Myxobakterien in einem geschlossenen Schwarme erklären läßt. Die am nächsten liegende Annahme ist ja wohl die, daß es sich um eine Chemotaxis handle. Irgend ein vorläufig unbekannter, von den Stäbchen ausgehender Stoff muß dann als Reiz wirken. Zunächst könnte man fragen, ob es sich um eine Topo- oder eine Phobotaxis handle, ich gebrauche hierbei diese Begriffe so, wie sie in Pfeffer's „Pflanzenphysiologie" definiert sind.

Mir ist es am wahrscheinlichsten, daß es sich hier um eine

Phobotaxis handelt, sicher entscheiden kann ich die Frage aber nicht. Gegen Topotaxis spricht vor allem, daß durch direkte Beobachtung des Weges der Stäbchen gar nichts davon zu erkennen ist, daß isoliert kriechende Stäbchen durch andere Stäbchen, oder auch durch größere Stäbchenanhäufungen deutlich angelockt werden. Besonders der oben geschilderte Versuch mit der Aussaat einzelner isolierter Sporen neben einer großen Sporenmasse scheint mir hier sehr beweiskräftig zu sein.

Aber auch eine Erklärung der Schwarmbildung durch die Annahme einer Phobotaxis hat ihre großen Schwierigkeiten. Von Phobotaxis dürften wir sprechen, wenn von den Stäbchen ein gewisser Stoff abgesondert würde, der für eine Unterhaltung der Bewegung notwendig ist und dessen Fehlen oder Verdünnung unter ein gewisses Minimum einen Hemmungsreiz auf die Bewegung ausüben würde.

In unserem Falle ist die Sachlage aber wesentlich komplizierter. Sehr auffällig ist zunächst, daß der Schwarm mit einem so ungemein scharfen Rande aufhört (Textfig. 2). Der hypothetische, als Reiz wirkende Stoff kann da unmöglich eine im Wasser frei lösliche Substanz sein, das ist wohl ohne weiteres klar. Denn zwischen einer Zone etwa 20 μ vom Schwarmrand entfernt und diesem selbst kann bei einem im Wasser löslichen vom Schwarme ausgehenden Stoffe doch nur ein ganz minimales Konzentrationsgefälle bestehen und auf einen so minimalen Unterschied müßten die Stäbchen ganz genau reagieren, anders wäre ja der scharfe Rand nicht zu erklären. Über diese Schwierigkeit kommen wir wohl hinweg, wenn wir annehmen, daß hier nicht ein im Wasser löslicher Stoff als Reiz wirkt, sondern ein nur hochgradig quellbarer, und als solcher kommt wohl in erster Linie der von den Stäbchen abgesonderte Schleim in Betracht. Da liegt vielleicht der Gedanke nahe, daß es sich überhaupt nicht um eine Reizreaktion handelt, sondern daß das Vorhandensein einer gewissen Schleimmenge rein m e c h a n i s c h notwendig ist für die Unterhaltung der Kriechbewegung. Das ist aber nicht der Fall, denn wenn man isolierte Sporen aussät, so kriechen die ausgekeimten freien Stäbchen mit derselben Geschwindigkeit herum, wie die Stäbchen in einem geschlossenen Schwarme, und dies auch an Stellen des Deckglases, wo noch kein Schleim sonstwie hingekommen sein kann.

Ich glaube also, daß bei Annahme des Schleimes als Reizstoff der scharfe Rand des Schwarmes nicht gegen die Annahme einer phobischen Reaktion spricht.

Dagegen scheint mir nicht ohne weiteres durch Phobotaxis folgender Umstand erklärbar zu sein: Man sieht ungemein häufig innerhalb des Schwarmes ganze Züge von ungefähr gleichgerichteten Stäbchen. In Textfig. 2 z. B. läßt sich wie schon erwähnt eine ganz bestimmte Bahn erkennen, die Stäbchen krochen in einer breiten Straße radial gegen den Rand, bogen hier teils rechts, teils links um und krochen am Rande weiter, um dann einzeln wieder allmählich in das Innere des Schwarmes einzubiegen. In dem gezeichneten Schwarme waren gleichzeitig fünf derartige in verschiedenen Richtungen radial nach außen gerichtete Straßen ausgebildet. An anderen Stellen der Schwärme ist ein solches kolonnenweises Kriechen nicht zu er kennen, die Individuen kriechen wirr durcheinander. Vielfach zeigen auch einzelne Schwärme nirgends bestimmte Stäbchenzüge.

Die Frage, welche Faktoren die Bewegungsrichtung im Innern des Schwarmes beeinflussen und speziell das kolonnenweise Kriechen hervorrufen, lasse ich offen, ich muß mich begnügen vorläufig die Tatsache zu registrieren.

Rein mechanisch läßt es sich dagegen wohl ungezwungen erklären, daß am Rande des Schwarmes, bzw. später, wenn der Schwarm den ganzen Hängetropfen ausfüllt, am Rande des Tropfens die Stäbchen dichter liegen, als innerhalb. Wie wir gesehen haben, wird die Bewegung von Stäbchen, die über den Rand hinaus zu kriechen in Begriffe sind, gehemmt. sie liegen oft für längere Zeit völlig still, es muß also hier zu einer Ansammlung kommen.

Ein dritter Punkt endlich, der hier bei den Ursachen der Schwarmbildung noch zu besprechen wäre, ist folgender: Wie schon erwähnt, kommt es n i c h t zur Schwarmbildung, wenn man auf das Deckglas der Hängetropfenkultur außer einer geschlossenen größeren Sporenmasse, die für sich allein die Bildung eines solchen veranlassen würde, noch eine Anzahl verteilter Sporen bringt. Dies läßt sich wohl folgendermaßen erklären: Unmittelbar nach dem Auskeimen werden auch die isoliert liegenden Stäbchen alle zu kriechen anfangen, es wird dadurch bald die ganze vom Hängetropfen bedeckte Deckglasfläche von einem Netz von schleimigen Kriechspuren überzogen und dieses Schleimnetz muß wohl genügen, um die phobotaktische Reaktion zu verhindern, die ja sonst die Stäbchen aus der geschlossenen Sporenmasse zeigen müßten, wenn sie an den Rand der den Sporenkomplex umhüllenden Schleimmasse kommen.

Eine sehr wesentliche Rolle spielen Richtungsreize und zwar diesmal topische bei der Fruchtkörperbildung. Wie schon erwähnt,

bildet Myxococcus ruber scharf umschriebene Fruchtkörper, die in Form von etwa 0,2—0,5 mm dicken intensiv roten Kügelchen seltener stumpfen Kegelchen sich über die Unterlage erheben (Fig. 16 Taf. IV). Falls die Spezies unter ihren natürlichen Bedingungen wächst, also auf Mist z. B., so sitzen die Fruchtkörper stets außen auf dem Substrat, nie im Innern desselben. Es war zu untersuchen, wodurch die Anhäufung der sporenbildenden Stäbchen an diesen distinkten Punkten und ferner, wodurch die Orientierung der Fruchtkörper außen auf dem Substrat zustande kommt.

Daß für die Orientierung der Fruchtkörper die Schwerkraft nicht als Richtungsreiz in Frage kommt, zeigt ohne weiteres die Beobachtung, daß die Fruchtkörper auf den runden Hasenmistbällchen allseitig herauskommen.

Um weiter zu kommen, war vorerst festzustellen, wie die vegetativen Stäbchen sich unter dem Einfluß der etwa als Reiz in Frage kommenden Faktoren verhielten. Ich schildere kurz die angestellten Versuche:

Kulturen auf Mistagar in Petrischalen wurden nur von einem kleinen Punkte am Rande aus beleuchtet, d. h. sie wurden in schwarzes Papier gewickelt und in dieses irgendwo am Rande der Schale ein kleines Loch geschnitten. Die Lichtrichtung hatte nicht den geringsten Einfluß auf die Bewegungsrichtung der Stäbchen, es fand auch keine Ansammlung der Stäbchen auf der Licht- oder der Dunkelseite des Schwarmes statt. Auf Mistagarplatten breitet sich — ich will das hier kurz vorwegnehmen — von der zur Infektion benutzten Sporenmasse aus der Stäbchenschwarm etwa in Kreisform nach allen Richtungen hin aus. Der Schwarm bildet einen dünnen, zarten, gerade eben noch sichtbaren, sehr charakteristischen, matten Belag auf der sonst glatten, glänzenden Agaroberfläche. Bei etwa 30° C entwickelt sich in 2—3 Tagen ein Schwarm von ungefähr 2 cm Durchmesser. Bei den eben geschilderten Lichtversuchen nun waren die Schwärme stets gleichmäßig kreisförmig, eine Begünstigung der Bewegungsrichtung nach irgend einer Seite hin kann also nicht vorgelegen haben.

Ebenso wenig wie phobotaktisch reagieren die Stäbchen hydrotaktisch. Es findet kein Kriechen von trockenen nach feuchten Agarpartien oder umgekehrt statt. Auch Versuche, die in analoger Weise auf Mist und auf mit Mistwasser getränkten Fließpapier angestellt waren, gaben dasselbe Resultat.

Ein negatives Ergebnis hatten ferner Versuche auf Rheotaxis nach Art der Versuche Stahl's[1]) mit Myxomyceten.

Zur Feststellung eines etwaigen richtenden Einflusses verschiedener O-Spannung verfuhr ich so, daß ich kleine, 1 cm breite Schwärme auf Mistagarplatten mit einem großen Deckglase 30 × 30 mm, das sich der Agarfläche dicht anschmiegt, zudeckte. Der allmählich größer werdende Schwarm wuchs langsam über das Deckglas hinaus, die unter dem Deckglase liegenden Stäbchen kriechen jedoch im übrigen nicht darunter hervor; auch dann nicht, wenn man eine sehr dünne Agarschicht verwendet, so daß also mitten unter dem Deckglas sich sicher eine wesentlich geringere O-Spannung, als außerhalb desselben ausbilden muß. Legt man tiefgehende Agarstichkulturen von Stäbchen, nach der in der Bakteriologie üblichen Weise an, so findet ebenfalls kein taktisches Herauskriechen der Stäbchen statt. Sie wachsen und vermehren sich, wenn auch nur langsam, unten im Stichkanal, bilden hier auch Sporen. Doch ist schon 1—2 cm unterhalb der Agaroberfläche das Wachstum viel geringer, als in den obersten Lagen des Stichkanals. Bei nahezu völligem Fehlen von O-, unter H- Atmosphäre wächst M. ruber nicht.

Von sonstigen chemischen Reizen operierte ich mit den Hauptnährstoffen. Zuerst verfuhr ich so, daß ich eine Petrischale mit reinem Leitungswasseragar, auf dem M. ruber nicht wächst, ausgoß, nach dem Erstarren die eine Hälfte der Agarscheibe herausschnitt und sie mit Mistagar nachfüllte. In die Nähe der Berührungslinie, auf den Wasseragar brachte ich dann eine kleine Menge vegetativer Stäbchen. Der sich daraus entwickelnde Schwarm kroch nicht nach dem Mistagar hin, breitete sich vielmehr allseitig gleichmäßig etwa in Kreisform aus. Hierbei zeigte aber das ziemlich kräftige Wachstum des Schwarmes auf dem Wasseragar, daß gerade die wichtigen Nährstoffe aus dem Mistagar in den Wasseragar rasch hineinwandern müssen. Ich modifizierte daher den Versuch so, daß ich die beiderlei Agararten sich nur in einer schmalen Brücke von 2 mm Breite berühren ließ. Jetzt wuchs der Schwarm auf dem Leitungswasseragar sehr schwach, zeigte aber trotzdem keinerlei Chemotaxis nach dem Mistagar hin.

Das Ergebnis aller dieser Versuche, ob eine Beeinflussung der Bewegungsrichtung des vegetativen Schwarmes durch äußere Faktoren erkennbar sei, ist also ein negatives.

Einen ganz deutlichen Richtungsreiz üben aber die eben in

[1]) Stahl, Botan. Zeitung 1884 p. 147.

Sporenbildung begriffenen Stäbchen auf andere Stäbchen aus. Haben an irgend einem Punkte des Schwarmes einige Individuen begonnen, die ersten Stadien der Abrundung zu zeigen, dann „The impulse to sporulate seems to be as it were contagious and takes posession of a large number of rods simultaneously“, wie bereits Thaxter das treffend beschreibt. Außerdem werden aber auch andere vegetative Stäbchen angelockt. Doch ist das wegen der sehr langsamen Bewegung der Stäbchen nur schwierig festzustellen. Es bleibt nichts anderes übrig, als die Bahn einer größeren Anzahl von Stäbchen in der Nähe von jungen Fruchtkörpern mit dem Prisma anfzunehmen; dabei zeigt sich, daß viele Stäbchen ganz unbeeinflußt vorbeikriechen, andere dagegen zeigen einen Kurs gerade auf den Fruchtkörper zu, und zwar ist die Zahl dieser letzteren größer, als sie es nach der bloßen Wahrscheinlichkeit dieser Bewegungsrichtung im regellosen Schwarm sein würde. Als Durchschnitt einer Reihe von Zählungen ergab sich, daß in 100 μ Abstand von Fruchtkörper etwa $^1/_6$ aller Stäbchen auf diesen zukrochen, die übrigen in verschiedenen anderen Richtungen. Der als Reiz wirkende Fruchtkörper hatte dabei im Maximum einen Durchmesser von 40 μ.

Um die jungen Sporenhäufchen herum sieht man sehr oft die angelockten Stäbchen im Kreise herumkriechen. Ab und zu biegt aber auch wieder eines dieser kreisenden Stäbchen ganz vom Fruchtkörper weg. Sehr häufig kommt es vor, daß die ältesten, schon fertig ausgebildeten Sporen etwas seitlich am Sporenhäufchen liegen, man kann dann deutlich erkennen, daß nicht sie es sind, die den Richtungsreiz auslösen, sondern das tun nur die allerersten Stadien der Sporenbildung, nur um diese sammeln sich die Stäbchen (Texfitg. 3). Später, wenn die Sporenhaufen erst eine gewisse Größe erreicht haben, zeigen die Stäbchen eine ausgesprochene Tendenz, unter ihnen sich anzusammeln; auf diese Weise kommt es, daß die Fruchtkörper sich von der Unterlage abheben, oft wie gestielt erscheinen. Zur Ausbildung eines aus festgewordenem Schleime bestehenden eigentlichen Stieles, wie bei Chondromyces und bei Myxococcus stipitatus Thaxt. kommt es dagegen bei M. ruber nicht.



Fig. 3
Myxococcus ruber.
Beginn der Fruchtkörperbildung.

Wir können nach dem eben geschilderten Verhalten der Stäb-

cheu die gemeinschaftliche Sporenbildung wohl auf eine Topotaxis zurückführen. Als Reiz muß irgend ein unbekannter, von den eben sporulierenden Stäbchen ausgehender Stoff wirken. Es bleibt noch zu untersuchen, wodurch die Orientierung der Fruchtkörper auf der Außenseite des jeweiligen Substrates zustande kommt. Zu dem Zwecke wäre zunächst festzustellen, durch welche Faktoren die Sporenbildung ausgelöst wird.

Ein solcher Faktor ist langsames Austrocknen. Das ist leicht zu zeigen. Wenn z. B. von einer Kultur auf Mistagar im Reagenzglas der sich vorschiebende Rand des Schwarmes die Glaswand erreicht, so dringt er nur ganz wenig auf sie vor, es bilden sich auf dem Glase parallel dem Agarrande eine ganze Reihe von Fruchtkörpern, auch dann, wenn im Zentrum des Schwarmes auf dem Agar noch keine solche gebildet werden. Sorgt man nun in einem analogen Falle dafür, daß die Luft im Reagenzglase möglichst dampfgesättigt bleibt,[1]) so schiebt sich der Rand des Schwarmes weit auf das Glas vor, ohne daß sich hier Fruchtkörper in größerer Zahl, als auf dem Agar bilden. Dasselbe Experiment läßt sich auch in Deckglaskulturen machen. Wenn man den Hängetropfen ganz vorsichtig, im Laufe eines Tages etwa, eintrocknen läßt, kann man ganz junge Schwärme, die sonst noch keine Fruchtkörper gebildet haben würden, zur Sporen- und Fruchtkörperbildung reizen. Geht das Austrocknen zu rasch vor sich, so trocknen die Stäbchen einfach am Deckglase an, ohne sich deutlich zu verändern und sterben bald ab. Langsames Austrocknen ist zur Sporenbildung jedoch keineswegs unbedingt notwendig, das zeigt folgendes Experiment. Bringt man in einen zur Hälfte mit Mistwasser gefüllten Erlenmeyerkolben etwas Sporenmaterial, so sinken die Sporen zu Boden, und auf der Bodenfläche des Kolbens bildet sich ein Schwarm in ganz derselben Weise, wie sonst auf dem Agar oder an dem Deckglase in Hängetropfenkulturen. Der Schwarm kann hier sehr groß werden, die ganze Bodenfläche eines Literkolbens z. B. bedecken. In diesen submersen Schwärmen bilden sich nach einiger Zeit — bei 30° C etwa 8 Tage nach der Aussaat — untereinander in Abständen von etwa einem $1/4$ cm sehr reichlich kleine Fruchtkörper. Das ließ daran denken, daß vielleicht eigene Stoffwechselprodukte als auslösender Reiz für die Sporulation wirken, sobald sie erst eine

[1]) Den Wattepfropf des Reagenzglases mit Wasser tränken, das Glas dann mit dem Wattepfropf nach unten so auf den Brütofen setzen, daß der jetzt unten liegende Halsteil mit der feuchten Watte wärmer ist, als das andere geschlossene Ende mit dem schräg erstarrten Agar, der die Kultur trägt.

gewisse Konzentration erreicht haben. Dann könnte vielleicht die Wirkung des Eintrocknens einfach durch eine dabei stattfindende Konzentrierung dieser Stoffe erklärbar sein. Ich glaube nicht, daß dieses der Fall ist. Man kann nämlich in der eben geschilderten Kultur im Erlenmeyerkolben das Mistwasser öfters erneuern und trotzdem tritt nach derselben Zeit die Sporenbildung auf.

Es ist auch nicht etwa eine gewisse innere Periodizität, die hierbei mitspielt. Man kann leicht von einem Schwarm, bevor er mit der Sporenbildung beginnt, eine kleine Menge Stäbchen auf einen nenen Nährboden übertragen, hier entwickelt sich dann wieder ein Schwarm. Ich habe zwei Stämme von M. ruber von Februar bis Juli in dieser Weise rein vegetativ fortgezüchtet.

Ebenso wie unter Wasser, kann die Sporenbildung auch nnter Umständen im Innern von festen Körpern erfolgen. Es läßt sich das folgendermaßen zeigen: Man füllt ein Reagenzglas etwa zur Hälfte mit Mistbrei, sterilisiert nnd bringt dann durch Stich mit einer Platinnadel vegetative Stäbchen oder auch Sporen tief ins Innere des nicht mehr zu feuchten Mistes. Die Stäbchen wachsen und vermehren sich dann anch im Innern, wenigstens in den obersten 2—3 cm und bilden reichliche, ganz unregelmäßige Sporenanhäufungen. Noch besser kann man das sehen an Agarstichkulturen. Wenn man ferner eine mit Mistagar ausgegossene Petrischale so infiziert, daß auch Sporen oder Stäbchen auf die Unterseite des Agars, also zwischen diesen nnd den Boden der Petrischale kommen, so breitet sich hier nnten der Schwarm ebenfalls aus, oft sogar rascher, als auf der Oberfläche des Agars (wohl wegen der unten größeren Feuchtigkeit) und bildet hier ebenfalls Sporenhäufchen, die dann freilich ganz flächenhafte unregelmäßige Ansammlungen darstellen. Ebenso bildet auch Polyangium fuscum seine Cysten unter Umständen zwischen Glas und Agar sehr reichlich und keineswegs deformiert aus.

Ein Reiz, der ähnlich wie das Austrocknen die Sporulation auslöst, ist oft die Berührung des Schwarmes mit anderen Bakterienkolonien. In Myxococcenkulturen auf Mistagarplatten geraten leicht beim gelegentlichen Öffnen der Schalendeckel aus der Luft stammende Keime von anderen Bakterien, oder von Hefen, die Anlaß zur Bildnng fremder Kolonien geben. Um viele dieser Kolonien herum und aus ihnen heraus bilden sich dann massenhaft kleine Fruchtkörper des Myxococcus, auch wenn sonst der Schwarm noch nicht fruktifiziert. Noch viel mehr als bei M. rnber ist bei einigen anderen Myxococcen das Vorhandensein anderer Bakterien als Reiz

für die Sporenbildung wirksam. Der zierliche M. coralloides Thaxt. gedeiht zwar in Reinkultur auf Mistagar sehr üppig fruktifiziert aber nur sehr selten; geraten in eine solche Agarknltur andere Bakterienkolonien, so sind sie bald wie übersäet mit den charakteristischen korallenartig verzweigten Fruchtkörpern dieser Spezies.

Wir kamen auf die Untersuchnng der Faktoren, welche die Sporenbildung auslösen durch die Frage, wodurch wohl die Lokalisation der Fruchtkörper auf die Anßenseite des Substrates bedingt wird, die ja Myxococcus nnter natürlichen Bedingungen zeigt. Die eben besprochenen Versuche haben keinen Anhaltspunkt dafür gegeben, daß diese Lokalisation auf eine den sporulierenden Stäbchen eigene Taxis zurückzuführen sei. Vielmehr kommt dies wohl daher, daß unter den natürlichen Bedingungen anch schon die vegetativen Stäbchen außen auf den Mist vorkommen, wohl wegen der Konkurrenz mit anderen Organismen, die den Bedingungen im Innern des Substrates besser angepaßt sind. Das ist freilich nur eine Vermutung, sie wird aber sehr wahrscheinlich dadurch, daß die Sporen bzw. Coenocysten der Myxobakterien wohl stets erst nach der Defäkation, von außen, ans der Luft in den Mist geraten. Ich habe trotz sehr vieler ausgelegter Proben auf frischem Miste nie Myxobakterien bekommen, dagegen war dies so gut wie stets der Fall auf Mist, der schon einige Zeit im Felde oder Walde an der Luft gelegen hatte. Das rührt nicht etwa daher, daß die Myxobakterien erst auf schon etwas durchgefanltem Mist wachsen können, denn wenn man frischen Mist — ich habe es mit Kuh- und Damwildmist versncht — mit Myxococcus ruber und anderen Myxococcen infiziert, gedeihen diese darauf sehr gut.

In der Widerstandsfähigkeit gegen äußere Schädlichkeiten besteht ein großer Unterschied zwischen Stäbchen und Sporen. Die ersten gehen bereits zugrunde, wenn man sie austrocknen nnd etwa $^1/_2$ Stunde trocken bei Zimmertemperatur liegen läßt. Sporen behalten dagegen völlig lufttrocken 3—4 Wochen ihre Keimfähigkeit — Sporenproben, die 4 Wochen trocken gelegen hatten, keimten nur noch teilweise. 6 Wochen trocken gehaltene Sporen habe ich nie zum Keimen gebracht. Ich verfuhr bei diesen Versuchen so, daß ich kleine Sporenklümpchen an der Innenwand einer Anzahl sterilisierter, mit Watte verschlossener Reagenzgläser antrocknen ließ; nach verschiedenen Zeiträumen wurden diese Sporen dann zur In-

fektion von Agarplatten benützt. Höhere Temperaturen ertragen die vegetativen Stäbchen bis etwa 50 ° C. Sporen ertragen feucht noch bis $^1/_2$ Stunde 70 ° C, trocken einige Minuten 100 °. Bei 60 ° C 10 Stunden trocken gehaltene Sporen erwiesen sich noch als keimfähig.

Das Temperaturoptimum haben alle von mir kultivierten Myxobakterien bei 30—35 ° C.

Die Keimung der Sporen wird durch verschiedene Reize verhindert. In Agar eingeschlossene Sporen, ferner solche, die in einen vegetativen Schwarm hineingebracht wurden, keimten nicht aus. In gewöhnlichem Leitungswasser, Peptonzuckerlösung und anderen künstlichen Nährlösungen keimen die Sporen deutlich langsamer aus, als in Mistwasser, meistens tun sie es gar nicht.

Daß Myxococcus ruber auf Mist, Mistwasser, Mistwasseragar in Reinkultur üppig wächst und fruktifiziert, haben wir bereits gesehen. Trotzdem ist es nicht möglich, durch Plattengießen mit Mistagar nach der üblichen Methode sich aus Rohkulturen Reinkulturen zu verschaffen. Es kommt dies daher, daß von Agar allseitig umschlossene Sporen selten keimen (vgl. S. 97). Nur ganz gelegentlich scheint dies vorzukommen. Wenn man mit sehr großen Sporenmassen aus einer Reinkultur Platten gießt, sieht man ab und zu die Bildung kleiner runder rötlicher Kolonien mit verwaschenem Rande im Innern des Agars. Sie werden selten größer, als $^1/_4$ mm, dann fangen die Stäbchen an, Sporen zu bilden. Nur wenn eine von diesen Kolonien ganz oberflächlich liegt, wächst sie bis zur Außenfläche durch, und dann kommt es zur Bildung eines regelrechten Schwarms.

Gelatine wird von M. ruber sehr stark verflüssigt. Infizierte Mistgelatineröhrchen sind meist in 1—2 Tagen völlig flüssig geworden, obwohl sich darin die zur Infektion benutzten Stäbchen nur sehr wenig vermehrt haben. Zur Fruktifikation kommt M. ruber auf Mistgelatine nicht.

Legt man in der auf S. 114 geschilderten Weise submerse Kulturen an, so kommt es ab und zu vor, daß einzelne Stäbchen oder auch ganze Lappen des Bodenbelages an die Oberfläche der Kulturflüssigkeit kommen, ebenso kann auch der den Boden des Kulturgefäßes bedeckende Schwarm sich soweit ausbreiten, daß der Rand die Oberfläche der Flüssigkeit erreicht, in allen diesen Fällen bildet sich dann bald eine ziemlich feste, aus Schleim und Stäbchen bestehende Haut aus, die nach wenigen Tagen meist die ganze Flüssigkeit überzieht. Auf dieser Haut entwickelt M. ruber

besonders schön seine Fruchtkörper. Man kann leicht mit einem runden Glasstabe größere Fetzen dieser Haut herausfischen, sie fixieren nnd färben. In sehr alten Kultnren ist die Haut fast stäbchenfrei, die meisten Stäbchen haben Sporen gebildet und sich in den Fruchtkörpern gesammelt. Doch bleibt immer eine im einzelnen verschieden große Zahl von Stäbchen znrück; vielfach sind diese dann tot und im Zerfall begriffen.

Sehr schwierig ist die Knltur von M. ruber auf künstlichen Nährböden von bekannter Znsammensetzung. Ich verwendete zn den Versnchen einen folgendermaßen znsammengesetzten Nähragar: Aqua destill. + 2 Proz. Agar (zwei Tage in Leitungswasser einen Tag in destilliertem Wasser ausgewaschen) + 0,2 Proz. Kaliummonophosphat + 0,2 Proz. Chlornatrium + 0,2 Proz. Magnesinmsnlfat + 0,2 Proz. Ferrosnlfat, dazu dann 1) Mannit + Pepton je $^1/_2$ Proz., 2) Mannit + Glykokoll je $^1/_2$ Proz. usw. in allen entsprechenden Kombinationen: Dextrose, Mannit, Glyzerin, Calcinm butyricum, Calcium lacticum mit Pepton, Asparagin, Glykokoll, Ammonsulfat, Calciumnitrat, ferner den Salzagar mit Pepton allein. Alle Nährböden wurden mit Sodalösnng auf eben nentrale Reaktion gebracht. Zur Infektion wurden Stäbchen verwendet wegen der unsicheren Keimung der Sporen auf derartige Nährböden.

Anf keiner von diesen verschiedenen Nähragarsorten wuchs M. ruber anch nur annähernd uormal. Eine deutliche Vermehrnng der Stäbchen erfolgte nnr in allen Kombinationen, die Pepton enthielten. Anf den peptonhaltigen Nährböden, am schönsten auf Peptondextroseagar entwickelte sich anfangs sehr langsam ein fleischfarbener bis gelblicher Belag, aus Stäbchen und sehr reichlichem, zähem, fast knorpeligem Schleime bestehend. Dieser Belag wächst nur sehr wenig, bereitet sich höchstens 1 cm weit von der Impfstelle ans. Ganz langsam, im Verlaufe von 14 Tagen etwa wird der Belag besonders im Zentrum runzelig und höckerig und mehr rosafarbig. Znletzt bestehen diese runzelig-höckerigen Partien nur aus Sporen. Mit den Reinknlturen anf Mistagar haben diese Bilduugen auf Peptonzuckeragar gar keine Ähnlichkeit. Man kann leicht von solchen Peptonznckerschwärmen aus neue Peptonzuckersubstrate infizieren, ich habe auf diese Weise einen Stamm von M. ruber $3^1/_2$ Monate auf Peptonzuckeragar fortgezüchtet. Dabei ist der Stamm keineswegs degeneriert. Wenn man von ihm aus Mistagar infiziert, erhält man sofort wieder ganz normale Schwärme und Frnchtkörper. Auf dem Boden von mit Peptonzuckerlösung gefüllten Erlenmeyerkolben bildet sich etwa 8 Tage nach der Infektion

ein ganz ähnlich gelblich-rosafarbener Belag, wie auf Peptonzuckeragar.

Ein Zusatz von 0,5 Proz. Pepton zu Mistagar übt keinerlei formative Wirkung aus, dagegen sehen auf Mistagar mit 1 Proz. und noch mehr mit 3 Proz. Dextrose die Fruchtkörper ganz anders aus, als auf reinen Mistagar. Es sind nicht mehr scharf umgrenzte, kugel- oder säulchenförmige Gebilde, sondern die Sporenhäufchen haben einen ganz unregelmäßigen Umriß, sind weich und zerfließlich und erheben sich kaum über das Substrat.

Noch viel mehr, als bei Myxococcus ruber ist bei anderen Myxococcen, die ich z. Z. in Kultur habe, die Form der Fruchtkörper, weniger die der Schwärme, von äußeren Faktoren abhängig. Eine rosafarbige Spezies, die, abgesehen von der Farbe der Fruchtkörper, in Mischkultur mit anderen Bakterien dem Myxococcus ruber sehr ähnlich ist, bildet in Reinkultur auf sterilisiertem Mist zwar noch ganz normale Fruchtkörper, auf reinen Mistagarkulturen dagegen sind diese nicht kugelförmig, sondern ganz flach, kaum von der Unterlage sich erhebend, und von ausgezacktem, oft fast geweihartig verzweigtem Umriß. Liegen in einem solchen, sonst reinen Schwarme dieses rosafarbigen Myxococcus fremde Bakterienkolonien, so sind die innerhalb dieser fremden Kolonien sich bildenden Fruchtkörper ganz normal kugelförmig.

Ob man aus dem negativen Ausfalle aller Kulturversuche auf den verschiedenen, nicht peptonhaltigen Nährböden einen bestimmten Schluß auf den Stoffumsatz, speziell den Nährstoffbedarf von Myxococcus ruber ziehen darf, ist mir zweifelhaft, man könnte auch an die Möglichkeit von Reizhemmungen denken.

Die bisherigen Angaben hatten sich alle auf Reinkulturen bezogen, es bleibt noch zu berichten, wie sich die Myxobakterien verhalten beim Zusammenleben mit anderen Organismen, speziell Bakterien. Bilden sie hier ebenfalls solche geschlossene, pseudoplasmodiumartige Schwärme, wie in den Reinkulturen, oder dringen andere Organismen in den Schwarm ein? Letzteres ist der Fall. Auch nur einigermaßen von anderen Bakterien freie Myxobakterienmassen findet man in Rohkulturen sehr selten, dabei können in den Gemischen sogar an Zahl und Menge die fremden Bakterien weit überwiegen, so daß die einzelnen Myxobakterienstäbchen fast verschwinden. Infiziert man z. B. eine Mistagarplatte gleichzeitig mit Bacterium Koli und Myxococcus ruber, so entwickelt sich an der Impfstelle zunächst der für Koli charakteristisch gelbliche schmierige Belag, der sich, der Vermehrung der Koli-Individuen entsprechend,

langsam verbreitert. In diesem Belage findet man schon nach ein bis zwei Tagen einzelne Myxococcusstäbchen und nach drei bis vier Tagen sieht man seitlich aus der Kolikolonie heraus sich auf den Agar einen zarten dünnen Belag vorschieben, den vegetativen Schwarm von Myxococcus. Weiterhin breitet der Schwarm sich dann auf dem Agar aus, ganz wie für die Reinkultur bereits geschildert, er erweist sich auch hier außen schon in geringer Entfernung von der Kolikolonie meist völlig rein.

Von Interesse war schließlich noch die Frage, ob die Myxobakterienstäbchen auch dann, wenn sie sehr stark mit anderen Bakterien untermischt sind, doch noch die Tendenz haben, in einem Schwarme zusammenzubleiben. Diese Frage ist zu bejahen, der Nachweis machte aber anfangs Schwierigkeiten, er gelang schließlich so, daß ich auf Agar durch Ausstreichen eine etwa talergroße Kolonie einer rein weißen, aus der Luft gezüchteten Hefe anlegte und diese dann im Zentrum mit Myxococcus ruber impfte. Der Schwarm breitete sich aus, und soweit er reichte, nahm die sonst weiße Kolonie einen leicht rötlichen Ton an, durch die Beimischung der roten Myxococcusstäbchen. Auch hier hörte die Rosafärbung mit einem scharfen Rande auf, und daß wirklich dieser Rand auch der Grenze des Schwarmes entsprach, ergab sich daraus, daß, unmittelbar nachdem die Rosafärbung den Rand der weißen Hefenkolonie erreicht hatte, sich außerhalb dieser auch der Rand des Myxococcusschwarmes auf den Agar verschob.

Soweit vorläufig die physiologischen Angaben. Viele nahe liegende Fragen habe ich gar nicht berührt oder doch nur kurz gestreift, aber ich hoffe, daß zu einer Orientierung über die Biologie der Myxobakterien das vorstehende dennoch genügt und das war der Zweck der Mitteilung.

Hier anknüpfen möchte ich noch eine kurze Bemerkung über die systematische Stellung der Myxobakterien. Wie schon in der Einleitung erwähnt, sind die zuerst entdeckten Vertreter unserer Familie für alles mögliche gehalten worden. Der erste, der eine der Myxobakteriengattungen dahin stellte, wohin wir heute die Familie stellen, war Schroeter, er führt Cystobacter fuscus (= Polyangium) und Cystobacter erectus (= Chondromyces) unter seinen „Eubacteria“ auf, rechnet also die Gattung zu den Schizophyten. Ebenso faßt auch Thaxter die Myxobakterien als hochentwickelte Schizophyten auf. Von verschiedenen neueren Autoren ist merkwürdigerweise daran gedacht worden, die Myxobakterien könnten doch wohl nähere Beziehungen zu den Akrasieen haben. Ich glaube diese An-

nahme ist gänzlich unberechtigt. Was dafür sprechen könnte, ist doch nur eine ganz oberflächliche Analogie in der Fruchtkörperbildung. In allem anderen aber, dem Bau der Zelle, dem Fehlen eines dem hochdifferenzierten Akrasieenzellkern entsprechenden Körpers, der Art und Weise der Teilung der vegetativen Stäbchen, ferner der so auffällig an die Oszillarien erinnernden Kriechbewegung zeigen die Myxobakterien von den Akrasieen die größte Verschiedenheit, stimmen vielmehr mit den Schizophyten überein. Ich meine es lohnt sich gar nicht, auf eine so selbstverständliche Sache weiter einzugehen. Heute wohl noch nicht zu entscheiden ist dagegen die Frage, welche von den übrigen bekannten Schizophyten wir als die nächsten Verwandten der Myxobakterien ansprechen dürfen. Wohl keine mehr als andere, wir dürfen aber nicht vergessen, daß es wohl noch manche, z. Z. unbekannte eigentümliche Bakterienformen gibt, Formen, die eben wie die Myxobakterien nicht mit der üblichen Plattengießmethode zu fangen sind.

Daß bei uns in Europa Myxobakterien sehr verbreitet sind, habe ich schon eingangs erwähnt. Ich habe bereits eine große Anzahl verschiedener Arten gefunden. Eine systematische Beschreibung derselben, und genaue Diagnosen der neuen Arten, darunter auch die des Myxococcus ruber sollen an anderer Stelle gegeben werden.

Berlin, Botanisches Institut der Universität, 25. Juni 1904.

Figurenerklärung.

Tafel IV.

Fig. 1—8. Sporenkeimung von Myxococcus ruber.

1 ruhende Sporen eben ausgesät gez. 9^{45} h.

2 Sporen mit den ersten Zeichen der Keimung gez. 12 h.

3—6 dieselbe Spore wie in *2* gez. um 2 h bezw. 3 h, 4^{30} h, 5 h.

7 ein anderes Individuum derselben Aussaat um 6 h.

8 Stäbchen 20 Stunden später, kurz vor der Teilung. Vergr. 1 : 3000.

Fig 9—13. Aufeinanderfolgende Stadien der Sporenbildung von Myxococcus ruber. Gefärbtes Präparat. Vergr. 1 : 3000.

Fig. 14. Junger Schwarm von Polyangium fuscum in Hängetropfenkultur. Vergr. 1 : 75.

Fig. 15 = 14. 24 Stunden später in Begriff neue Coenocysten zu bilden. Vergr. 1 : 75.

Fig. 16. Myxococcus ruber. Fruchtkörper. Vergr. 1 : 25.

Fig. 17. Polyangium fuscum. Coenocystenhäufchen. Vergr. 1 : 25.

Bemerkungen zu einigen Beobachtungen Feinbergs an „mit Coccidien angefüllten Darmcysten vom Kaninchen".

Von

Prof. **A. Schuberg** (Heidelberg).

In seinem Buche über „das Gewebe und die Ursache der Krebsgeschwülste" [1]) führt Feinberg folgendes aus:

„Ich möchte hierbei gleich darauf hinweisen, daß einzellige, tierische Organismen im Schnitt zuweilen so aussehen, daß man sie von Metazoenzellen, Kunstprodukten (?), Produkten der Degeneration, pathologischen Veränderungen im Gewebe gar nicht unterscheiden kann . . ."

„Einige auffällige Beobachtungen, die ich in dieser Beziehung bei Coccidienzellen in Schnittpräparaten der Darmcysten von Kaninchen gemacht habe, gaben mir zu diesen Bemerkungen noch ganz besonders Veranlassung, um so mehr, als ich eine ganz konstante Erscheinung, die sich gerade in Schnittpräparaten der Coccidienzellen verbreitet findet, überhaupt in der Literatur noch nicht erwähnt gefunden habe, wohl ein Beweis dafür, daß gerade diese einzelnen Coccidienzellen als solche in dem von ihnen befallenen Gewebe bisher noch nicht genügend auf ihren Bau geprüft worden sind . . ."

„Wenn man nämlich die Schnitte solcher mit Coccidien angefüllten Darmcysten von Kaninchen genau durchsieht, so findet man Coccidienzellen mannigfacher Art; einmal eine Anzahl von solchen

---

[1]) Berlin (A. Hirschwald) 1903.

Zellen als scharf konturierte Vakuolen, die in ihrem Inhalt absolut nichts erkennen lassen, Taf. II, 3; andere Zellen zeigen nur meist einen zentral gelegenen, gefärbten, dunklen Punkt (Kernpunkt, „Karyosom"), Taf. II, Fig. 2 b; noch andere Zellen (diese Beobachtung habe ich in der Literatur bisher bei Sporozoen noch nicht mitgeteilt gefunden) besitzen eine Anzahl konzentrisch geschichteter Konturen, die in der Zahl von 8—12, aber auch bedeutend mehr vorhanden sein können (Taf. II, Fig. 4 a u. b). Zur Erklärung des Vorkommens dieser verschiedenen Coccidienzellen muß gesagt werden, daß die das Aussehen von Vakuolen (Blasen) besitzenden Coccidienzellen mehreren Auslegungen begegnen können, denn einmal kann der Inhalt infolge regenerativer[1]) Vorgänge (Plasma und Kern) zugrunde gegangen sein; oder aber die einzelnen Parasitenzellen können sich zum Schutz vor der Gewebswucherung in einem derartig eingekapselten Zustande befinden, daß auch bei durchschnittenen Individuen die Farbe schlecht angenommen wird, was bei dem Hinweis auf die konzentrisch geschichteten Zellformen besonders möglich erscheint . . ."

„Für die konzentrisch geschichteten Kreise, die in großer Anzahl an solchen Zellen sichtbar werden und die nur einen, in der innersten Kontur liegenden Punkt (Kernpunkt, Karyosom) erkennen lassen, der durch einen Hof von dieser innersten Kontur getrennt ist, fehlt mir nun die Erklärung, es sei denn, daß das Coccidium sich zum Schutze gegen den Einschluß des Gewebes in dieser Weise einkapselt. Herr Geheimrat E. Schulze war so freundlich, mich darauf aufmerksam zu machen, daß sich analoge Verhältnisse auch bei Rhizopoden finden (Taf. II, Fig. 4 a u. b)."

Herr Dr. Feinberg hatte nun vor einigen Tagen die Freundlichkeit, mir unter anderen auch zwei Präparate von jenen „Darmcysten" der Kaninchencoccidien vorzuzeigen, die ihm als ein Beweis dafür erschienen waren, „daß gerade diese einzelnen Coccidienzellen als solche in dem von ihnen befallenen Gewebe bisher noch nicht genügend auf ihren Bau geprüft worden sind". Ich erkannte sofort, daß es sich nicht um Coccidien handelt, sondern um Kalkkörperchen eines Cysticercus. Herr Dr. Feinberg war so liebenswürdig, mir eines der Präparate zu überlassen, um meine Ansicht durch weitere Untersuchung prüfen zu können, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen besten Dank sage.

Diese weitere Untersuchung bestätigte nun meine Auffassung

[1]) Soll wohl „degenerativer" heißen?

durchaus. Das Gebilde, was Feinberg als „Darmcyste“ [1]) bezeichnete, ist nichts anderes als ein am Darm oder am Mesenterium des untersuchten Kaninchens schmarotzender Cysticercus, vermutlich der nicht seltene Cyst. pisiformis. In dem mir vorliegenden Präparate sind nicht nur die Blasenwand, sondern auch die Saugnäpfe und Teile des Hakenkranzes mit voller Deutlichkeit zu erkennen. Hierdurch wird die Vermutung über die Natur der „konzentrisch geschichteten Kreise“ und der „scharf konturierten Vakuolen“, die sich bei der ersten Betrachtung des Präparates mit stärkster Vergrößerung mir aufdrängte, durchaus bewiesen, wenn es für den Kundigen überhaupt eines solchen Beweises bedurfte.

Die „konzentrisch geschichteten Kreise“ wie die Vakuolen sind die Reste der Kalkkörperchen. An manchen Stellen des Präparates sind die Kalkkörperchen noch ziemlich vollständig erhalten, an anderen ist der kohlensaure Kalk mehr oder weniger vollständig aufgelöst. Im letzteren Falle bleibt dann außer der kernhaltigen blasigen Zelle, in welcher das Kalkkörperchen entstanden ist, entweder nur ein aus organischer Substanz bestehender, konzentrisch geschichteter Rest übrig, oder es ist von einem Inhalt, wenigstens mit den gewöhnlichen Methoden, gar nichts mehr zu erkennen. Vermutlich waren die Präparate Feinberg's mit Flemming'scher Lösung konserviert, durch deren Essigsäuregehalt der Kalk größtenteils aufgelöst war. Die Kalkkörperchen, von denen nur noch der umhüllende Zellrest übrig geblieben war, sind die Coccidien Feinberg's, die als „scharf konturierte Vakuolen“ erschienen, und „in ihrem Inhalt absolut nichts erkennen ließen“. Die „anderen Zellen“ Feinberg's aber, welche „eine Anzahl konzentrisch geschichteter Konturen“ besaßen, sind Kalkkörperchen, deren organische Reste die auch den intakten Körperchen zukommende Schichtung nach Auflösung des Kalkes noch erkennen lassen. Mitunter bleibt in der Mitte der aufgelösten Körperchen nur noch ein kleiner zentraler Rest erhalten; dieses sind schließlich diejenigen Zellen Feinberg's, welche „nur meist einen zentral gelegenen, gefärbten dunklen Punkt (Kernpunkt, Karyosom)“ zeigten. Ich habe, um die Auffassung der Befunde Feinberg's noch besonders zu prüfen, Kalkkörperchen von einem Cysticercus pisiformis untersucht, der mit Sublimat konserviert war und die Kalkkörperchen also noch intakt enthielt. Letztere lassen in diesem Zustande deutlich eine konzentrische Schichtung

[1]) Derartige „mit Coccidien angefüllte Darmcysten“ gibt es übrigens überhaupt nicht, weder bei der Darmcoccidiose des Kaninchens, noch bei irgendwelchen anderen Tieren.

erkennen nnd dürften sich wohl im wesentlichen wie Sphärokristalle verhalten. Bei Behandlung mit schwacher (ca. 1 proz.) Essigsäure wurde der Kalk nnter geringer Gasentwicklnng sofort aufgelöst und es blieben die gleichen verschiedenartigen Reste übrig, welche nach meiner Deutung den FEINBERG'schen Coccidien entsprechen.

Es ist also mit einwandsfreier Sicherheit nachgewiesen, daß die Beobachtungen FEINBERG's sich gar nicht auf Coccidien beziehen und man hat sich deshalb auch nicht mehr zu verwundern, daß FEINBERG seine Beobachtungen „in der Literatur bei Sporozoen bisher noch nicht mitgeteilt gefunden“ hat. Damit fällt denn auch der Hauptbeweis für FEINBERG's merkwürdige Ansicht, „daß gerade diese einzelnen Coccidienzellen als solche in dem von ihnen befallenen Gewebe bisher noch nicht genügend auf ihren Bau geprüft worden seien“.

Auf andere Angaben FEINBERG's über Protozoen, die zur Kritik herausfordern, gehe ich hier nicht näher ein, bemerke aber ausdrücklich, daß mein Schweigen keine Zustimmung ausdrücken soll. Dasselbe gilt für seine „Entdeckung“ des Carcinomerregers. Die wenigen Präparate, die mir durch seine Freundlichkeit zu sehen möglich war, und die sich nnr auf die bereits vorliegenden Publikationen bezogen, erschienen mir nicht beweisend.

Heidelberg, 22. Juni 1904.

Die Chromidien der Protozoen.

Von

Richard Goldschmidt (München).

(Hierzu 1 Textfigur.)

Der Begriff der Chromidien wurde von R. Hertwig (1902) in dem dieses Archiv einleitenden Aufsatz geschaffen. Hertwig bezeichnete mit diesem Terminus kleine Körperchen, die das Plasma von Actinosphaerium durchsetzen und sich färberisch durchaus wie Chromatin verhalten. Sie entwickeln sich unzweifelhaft aus dem Chromatin der Kerne, was vor allem daraus hervorgeht, daß unter gewissen Umständen sämtliche Kerne sich vollständig in Chromidien auflösen können. Diesen Bildungen schließt Hertwig eine Einrichtung an, die er bei beschalten Rhizopoden fand. Hier ist außer den Kernen ein feines chromatisches Netz im Plasma verteilt, das sich zu einem dichten Ring zusammenschließen kann, unter Umständen aber auch sich im Plasma so ausbreitet, daß es dieses völlig erfüllt und mit dem plasmatischen Netz zur Deckung kommt. Aus diesem Chromidialnetz können sich neue Kerne bilden, unter Umständen kann es sogar vorübergehend allein den Kern vertreten. Seitdem haben wir sowohl durch die Untersuchungen seines Entdeckers als auch von anderer Seite vieles Wichtige über den Chromidialapparat erfahren. Wir wollen im folgenden einen Überblick über diese Forschungen geben, um sodann zu erwägen, ob der Begriff des Chromidiums in seiner bisherigen Fassung beibehalten werden kann und schließlich Ausblick zu halten auf die neuen Einsichten, die uns diese Forschungsergebnisse in den Bau der Protozoenzelle wie der Zelle überhaupt gewähren.

I.

Beginnen wir mit den

a) Chromidien des Actinosphaerium,

die zur Entdeckung dieser Bildnngen führten und uns durch Hertwig's Untersnchungen (1899a, 1902, 1904) besonders genau bekannt sind. Hertwig war es aufgefallen (1899a), daß bei Actinosphaerien, die längere Zeit gehungert hatten, sämtliche bläschenförmigen Kerne verschwunden waren, dafür aber das ganze Protoplasma von Chromatinsträngen unregelmäßiger Größe und Gestalt durchsetzt war, die jedenfalls ans Kernen hervorgegangen waren. Weiterhin fanden sich dann die gleichen Stränge bei Tieren in starker Fütterung, schwanden wieder in Zeiten freiwilligen Hungers. Später stellte es sich herans, daß diese Chromidien normalerweise immer im Plasma des Actinosphaerium vorhanden sind und dessen starke Färbbarkeit bedingen. Es sind feinere oder gröbere Körner, Stäbchen oder dreieckige oder schwach verästelte Körperchen, die hauptsächlich der Markschicht angehören. Neuerdings (1904) nimmt Hertwig an, daß sie ebenso wie der Amphinukleolus aus einem Gemisch von Chromatin nnd Nukleolarsubstanz bestehen. Normalerweise treten sie aus den Kernen aus, nnter bestimmten Umständen, Hunger und Überfütterung, entstehen sie aber durch Anflösung der gesamten Kerne. Gerade diese Vorgänge bei der „physiologischen Degeneration", die uns besonders klar die Herkunft der Chromidien aus dem Kern beweisen, wurden von Hertwig eingehend stndiert. Es können entweder nnr ein Teil der Kerne in Chromidien aufgelöst werden, die dann als Stränge nnd verästelte Fäden das Plasma durchziehen, oder aber alle Kerne gehen zngrunde nnd das kernlose Tier ist vollständig von Chromidien erfüllt. Diese können sich unter brännlicher Verfärbnng in Pigment verwandeln. Die Kerne, die diese Umwandlnng erfahren, lassen sich morphologisch in keiner Beziehung von gewöhnlichen Kernen unterscheiden. Hertwig konnte die frühesten Stadien dieser Umwandlung feststellen; der Kern zeigte noch völlig den normalen Ban, nur war die Kernmembran aufgelöst und die Körnchen der Chromatinrosette begannen in das Plasma überzutreten. Ursprünglich hatte Hertwig (1897) geglaubt, daß solche „Chromidialtiere" sich wieder erholen können, indem sich aus den Chromidien einige neue Kerne wieder aufbauen. Den Vorgang bezeichnete er als „chromatische Kernreduktion" und schrieb ihm eine große Bedeutung für die Herstellung des richtigen Wechselverhältnisses

zwischen Kern uud Protoplasma, der Kernplasmarelation, zu. Neuerdings (1904) überzeugte sich Hertwig aber davon, daß Chromidialtiere, die alle Kerne aufgelöst haben, sich nicht mehr erholen können, eine Neubildung von Kernen aus Chromidien nicht stattfindet. Hatten sich Chromidialtiere wieder erholt, so waren ihnen noch einige Kerne geblieben. Es sei schließlich noch betont, daß die Auflösung der Kerne in Chromidien nicht zu verwechseln ist mit der Kernresorption, die nach Hertwig's bekannten Untersuchungen (1898) bei der Encystierung der Actinosphaerien stattfindet.

Von Chromidien, die direkt diesen Chromidien des Actinosphaerium zu vergleichen sind, ist noch nicht viel bekannt geworden, wenn wir von älteren zerstreuten Angaben über chromatische Körnchen im Plasma ohne Verständnis ihrer Bedeutung absehen. Léger (1904) beschreibt dagegen neuerdings echte Chromidien von verschiedenen Gregarinen. Bei Stylorhynchus finden sich im Plasma sowohl des Proto- wie des Deutomeriten chromatoide Körper von wechselnder Gestalt, bald kugelig, bald scheibenförmig oder in Gestalt von Fäden, stets mit Kernfarbstoffen intensiv färbbar. Sie sind gewöhnlich fein vakuolisiert und lassen bisweilen im Innern stärker färbbare Körnchen erkennen. Schon in ganz jungen Gregarinen entstehen sie und scheinen sich periodisch aufzulösen und wieder neuzubilden. Im Deutomerit sieht man sie oft nahe beim Kern liegen, so daß die Annahme berechtigt erscheint, daß sie aus „sekundären Nukleolen“, die regelmäßig aus dem Kern ins Plasma ausgestoßen werden, ihre Entstehung nehmen. In gleicher Weise findet sie Léger bei Didymophyes gigantea F. St., bei Gregarina maculata Léger liegen sie als kompakter Körper am Hinterende des Tieres und können so eine Doppelkernigkeit vortäuschen. Über die Bedeutung dieser Chromidien stellt Léger fest, daß sie ohne Zweifel mit denen des Actinosphaerium verglichen werden müssen sowohl in Beziehung auf die nukleäre Herkunft, als auch ihre Beziehung zum Stoffwechsel. Es zeigte sich nämlich, daß bei Gregarina maculata, die aus dem Darm von Olocrates stammten, die monatelang gehungert hatten, der Körper von einer ungewöhnlichen Zahl besonders großer Chromidien erfüllt war.

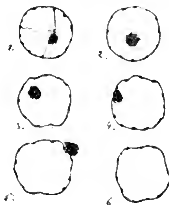
Ebenfalls auf eine Gregarine beziehen sich Angaben von Drzewecki (1904), auf Monocystis magna, agilis und porrecta. Hier sollen in jungen wie in älteren Tieren die Kerne vollständig in Chromatinpartikel zerfallen, die sich im Plasma zerstreuen, um dann zu verschwinden. Aus neu auftretenden Chromatinteilchen

baue sich dann ein neuer Kern auf. Die Angaben lauten aber so wenig zuverlässig, daß man vor der Hand von einer Verwertung dieser Mitteilungen absehen und sich darauf beschränken muß, daß auch für diese Formen vegetative Kernvorgänge unter Bildung von Chromidien wahrscheinlich sind.

In die gleiche Kategorie wie die Chromidien des Actinosphaerium gehören dagegen die Chromidien der Pelomyxa, über die ich nach eigenen noch nicht veröffentlichten Untersuchungen einiges mitzuteilen vermag. Bekanntlich besitzt Pelomyxa ebenso wie Actinosphaerium zahlreiche bläschenförmige Kerne, die auch im Bau mit jenen übereinstimmen, insofern man außer der Kernmembran ein Liningerüst unterscheiden kann, dem die Nukleolarsubstanz in bestimmter Weise eingelagert ist und das Chromatin in Form einer zentralen Chromatinrosette. Außer den Kernen enthält nun das Plasma des Pelomyxa konstant noch zwei Bestandteile. Einmal sind dies die Glanzkörper, charakteristische stark lichtbrechende Kugeln, die sich in großer Menge finden und schon oft in ihrem wechselnden Aussehen bei verschiedenen Spezies beschrieben wurden. Sodann findet man besonders in den inneren Partien und hier vor allem in der Umgebung der Kerne gesonderte Plasmapartien in Form von Strängen oder kernähnlichen Kugeln. Sie stellen nichts anderes dar als verbreiterte Partien der Vakuolenwände des grobschaumigen Plasmas, zeichnen sich aber einmal durch ihr individualisiertes Aussehen, sodann aber durch die außerordentlich regelmäßige, sehr feinschaumige Struktur und die Einlagerung feinster chromatischer Körnchen aus. Es zeigt sich nun, daß ein inniger Zusammenhang zwischen Kernen, Glanzkörpern und diesen Chromidien besteht, daß die letzteren aus den Kernen stammen. Es findet in dem Tier eine regelmäßige Auflösung von Kernen unter Bildung von Chromidien und Glanzkörpern statt.

Das erste, was man an einem sich zur Auflösung anschickenden Kern bemerkt, ist ein Anschwellen der Kernmembran, wodurch der Inhalt in höherem Maße von der Wand getrennt wird und mit dieser nunmehr durch lange zarte Lininfäden zusammenhängt. Die nächste Veränderung betrifft das Verhältnis von Plastin (Nukleolarsubstanz) und Chromatin. Während diese sich im Kern gewöhnlich vollständig decken, beginnen sie jetzt sich voneinander zu trennen. Zunächst sieht man im Zentrum des Kerns einen Amphinukleolus, bestehend aus einer Plastinkugel, der ein kompakter Klumpen von Chromatinkörnchen eingelagert ist (Fig. A 1). Nunmehr beginnt das Plastin sich auszudehnen und als blaß tingible homogene Masse den Kern-

raum zu okkupieren. Zunächst ist ihr der Chromatinklumpen noch exzentrisch eingelagert (2), dann trennen sich die beiden Substanzen völlig und das Chromatin, das noch mit feinen Fäden mit der Kernmembran in Verbindung stehen kann, liegt in einer peripheren Einbuchtung der Plastinmasse, etwa wie ein Nebenkern des Paramaecium dem Hauptkern anliegt (3). Indem sich die Plastinmasse immer mehr ausdehnt, wird das Chromatin bis dicht unter die Kernmembran gedrängt, die auch bereits buchtig erscheint (4). Endlich wird es gänzlich aus dem Kern eliminiert (5) und löst sich nunmehr in kleine Chromatinkörnchen auf, die als Chromidien die erwähnten Plasmainseln erfüllen. Die Plastinkugel, die nunmehr bereits völlig das Aussehen eines Glanzkörpers hat, wird zunächst noch von der zerknitterten Kernmembran umhüllt (6), wenn dann auch diese verschwindet, ist der Glanzkörper fertig. Die Vorgänge haben ohne Zweifel große Ähnlichkeit mit der von Hertwig (1904) festgestellten Bildung „nukleolärer Riesenkerne“ bei Actinosphaerium. Auch dort wächst die Nukleolarsubstanz, die sich vollständig vom Chromatin sondert, mächtig heran. Der Unterschied ist aber der, daß bei Pelomyxa die geschilderten Vorgänge die normale Art der Chromidienbildung zu sein scheinen.



A.

b) Das Chromidialnetz der Thalamophoren.

Auch diesen Begriff führte Hertwig im Anschluß an seine Mitteilungen über die Chromidien des Actinosphaerium in dem Aufsatze von 1902 ein. Die dieser Aufstellung zugrunde liegenden Tatsachen gehen zum Teil bereits auf ältere Untersuchungen zurück (Hertwig [1887], Rhumbler [1895, 1898]), auch war von Schaudinn (1895) bereits bei Foraminiferen die Anwesenheit extranukleären Chromatins festgestellt, die Erkenntnis ihrer Bedeutung basiert aber auf Hertwig's Untersuchungen an Arcella (1899b), weshalb von diesen hier ausgegangen sei. Bei Arcella vulgaris enthält das Protoplasma außer den bläschenförmigen Kernen noch einen be-

sonderen Strukturbestandteil in Gestalt einer stark färbbaren Masse, die gewöhnlich in Form eines Ringes dem Weichkörper peripher eingelagert ist. Durch ihr färberisches Verhalten dokumentiert sich diese Snbstanz als ein „extranukleäres Chromatinnetz“, 1902 dann als Chromidialnetz bezeichnet. Das Chromidialnetz, — denn das Chromatin ist netzartig dem Plasma eingelagert — kann in mehrere Stücke zerlegt sein nnd kann sich bei der Encystierung so ausdehnen, daß es mit dem Plasma„netz“ zusammenfällt. Ein solches Chromidialnetz fand Hertwig denn auch bei vielen anderen Monothalamien. Bei Euglypha umgibt es den Kern als dichte chromatische Hülle, die nach der Schalenmündung zn fingerförmige Fortsätze aussendet; bei Echinopyxis bildet es eine im Hinterende des Plasmakörpers gelegene konvexe Schale, der der Kern aufliegt. Der freie Rand der Schale kann sich zu netzförmigen Fortsätzen auflockern, auch Bröckchen abschnüren, die dann frei im Plasma liegen. Bei Difflugia acnminata umgibt den Kern ein Chromatinmantel, von dem ein chromatisches Gerüst ausgeht, das den hinteren Teil des Körpers erfüllt. Bei Difflugia globosa liegt im Hinterende um den Kern eine ähnliche Chromatinschale wie bei Echinopyxis, die vom Kern durch einen plasmatischen Zwischenraum getrennt ist, der aber von Chromatinfäden durchsetzt ist, die sogar mit dem Kerninnern zusammenzuhängen scheinen. Mehr strangförmig ist endlich das Chromidialnetz bei Difflugia pyriformis angeordnet.

Daß das Chromidialnetz tatsächlich dem Kernapparat zugehört, wurde nun dadurch bewiesen, daß Hertwig es höchstwahrscheinlich machen konnte, daß sich aus dem Netz neue Kerne bildeten, die er im Gegensatz zu den ursprünglichen „Primärkernen“ „Sekundärkerne“ nannte. Das Chromidialnetz beginnt sich an verschiedenen Stellen zu verdichten und es bilden sich allmählich kleine Kerne von verschiedener Größe. Die „Primärkerne“ sind vielfach noch nachznweisen, beginnen sich aber rückzubilden, wenn diese Vorgänge stattfinden und verschwinden ganz. Ganz ähnliche Vorgänge sind auch bei Difflngia globosa und pyriformis wie bei Echiuopyxis aculeata nachzuweisen. Auch hier bilden sich aus dem Chromidialnetz kleine Kerne ans, während der Primärkern noch nachzuweisen ist.

Auch die karyokinetische Teilung der Kerne vielkerniger Arcellen wurde von Hertwig festgestellt. Er hält dies für den Beginn der Teilnng, wofür er vor allem geltend machen kann, daß er in aneinanderliegeuden Tieren die Kerne in einem Zustande vorfand, der

auf eine vorhergegangene Teilung schließen läßt. Aus den mitgeteilten Beobachtungen ergibt sich schließlich für HERTWIG folgendes Bild von der Fortpflanzung der Arcella: Die Arcellen, die aus den Cysten ausschlüpfen, sind gewöhnlich zweikernig oder werden es alsbald. Nunmehr sondert sich das Chromatinnetz und bildet unter Rückbildung der Primärkerne die Sekundärkerne. Diese vielkernigen Tiere vermehren sich durch Teilung, wobei sämtliche Kerne karyokinetisch geteilt werden. Reduktionsprozesse sind dabei wahrscheinlich.

Diese grundlegenden Befunde HERTWIG's und ihre im Begriff des Chromidialnetzes niedergelegte theoretische Verwertung ließen zwei Punkte unverständlich, nämlich warum die merkwürdige Sonderung zwischen Primär- und Sekundärkernen eintritt und sodann wie diesem Entwicklungskreis die von BÜTSCHLI (1874) und CATTANEO (1878) geschilderte Fortpflanzung der Arcellen durch amöboide Keime einzuschalten ist. Beides findet seine Erklärung durch die Untersuchungen SCHAUDINN's (1903 a), die für das Verständnis der Protozoenzelle von größter Tragweite sind. Nach ihrer Besprechung werden wir uns leicht den mutmaßlichen Entwicklungsgang der Arcellen konstruieren können und zur Erkenntnis einer großen Einheitlichkeit in der Zellorganisation gelangen.

Zunächst gelang es SCHAUDINN, den Zeugungskreis von Polystomella zu schließen und die wichtige Stelle der Chromidien in der Entwicklung dieser Foraminifere festzustellen. Bekanntlich besteht hier ein Generationswechsel zwischen einer mikrosphärischen und einer megalosphärischen Generation. Die mikrosphärische Generation besitzt zahlreiche Kerne, die aber gegen Ende des vegetativen Lebens sich in Chromidien auflösen, so daß schließlich das ganze Plasma von Chromidialsträngen und Netzen durchzogen ist. Das Plasma fließt sodann aus der Schale heraus und zerfällt in die Pseudopodiosporen, aus denen die megalosphärische Generation hervorgeht, die zunächst in ihrem Plasma nur Chromidien besitzt. Meist beginnt sich nun mit der Schalenbildung aus den Chromidien ein Prinzipalkern zu sondern, während das Plasma von dem Rest der Chromidien erfüllt bleibt. Diese vermehren sich nun teils von sich selbst aus, teils durch Abgabe von Chromatin und Plastin aus dem Prinzipalkern. Während sodann der Prinzipalkern zugrunde geht, bilden sich aus den Chromidien zahllose bläschenförmige Kernchen, die das Plasma erfüllen. Jeder dieser Kerne teilt sich nun auf mitotischem Wege zweimal, umgibt sich mit Plasma, entwickelt zwei Geißeln und tritt als Flagellospore mit einer solchen

eines anderen Tieres in Kopulation. Aus der Kopula gehen dann durch Kernvermehrung die mikrosphärischen Individuen hervor.

Prinzipiell dasselbe Bild bietet der Zeugungskreis von Centropyxis aculeata. Im vegetativen Stadium besitzt das Tier außer dem Kern das von Hertwig entdeckte Chromidialnetz. Bei der Teilung (Schaudinn spricht von einer „Knospungsteilung") wird der Kern in ähnlicher Weise karyokinetisch geteilt, wie es von Euglypha durch Schewiakoff bekannt ist. Das Chromidialnetz wird durch heftige Plasmaströmungen in feinste Partikelchen zerrissen, die auf die beiden Tiere verteilt werden und sich hier wieder zum schalenförmigen Chromatinnetz reorganisieren. Hertwig hatte während dieses Teilungsvorganges die Kerne nicht nachweisen können und daher geschlossen, daß zeitweilig das Chromidium die Kerne ganz vertritt. Schaudinn gelang jedoch stets der Nachweis der Kerne, die wegen ihrer Chromatinarmut nur schwer zu erkennen sind.

Das Tochtertier hat gewöhnlich eine größere Schale als das Muttertier. In diesen großen Tieren beginnt sich nun der Kern rückzubilden, während das Chromidialnetz sich ausdehnt und das ganze Plasma erfüllt. Der größte Teil des Plasma tritt nun heraus und zerfällt in kleine Amöben, die sich aus ihren Chromidien einen Kern aufbauen, der von dem Kern der vegetativen Generation verschieden gebaut ist. Während nun ein Teil dieser Amöben sich eine kleine Schale aufbaut, die von der der Centropyxis gänzlich verschieden ist, macht ein anderer Teil noch eine doppelte Teilung durch Karyokinese des Kerns durch und baut erst dann seine Schale. Diese großen und kleinen Tiere, also Makro- und Mikrosporen, kopulieren nun und bilden nach der Kernverschmelzung eine Befruchtungscyste, die lange Zeit ruht. Aus dieser kriecht dann eine kleine Amöbe aus, die sich eine typische Centropyxisschale baut und durch Neubildung des Chromidialnetzes zu dem Ausgangspunkt zurückkehrt.

Wiederum prinzipiell gleich ist der Fortpflanzungskreis von Chlamydophrys stercorea. Auch hier ein Chromidialnetz, aus dem sich die Gameten, hier Schwärmer (Isogameten) bilden, während der vegetative Kern zugrunde geht. Aus der Kopula entsteht eine Befruchtungscyste, aus der nach dem Passieren eines Darmkanals eine Amöbe ausschlüpft, die in die typische Chlamydophrys übergeht.

Auch bei der Fortpflanzung der Entamoeba coli tritt vorübergehend ein Chromidium auf, aus dem sich die Geschlechtskerne differenzieren. Die Trennung ist aber nicht so klar wie bei den

besprochenen beschalten Rhizopoden. Deutlicher jedoch erscheint sie bei Entamoeba histolytica, der gefährlichen Dysenterieamöbe. Hier bildet am Ende des vegetativen Lebens der Kern Chromidien, die bald das Plasma erfüllen, während der Kern selbst zugrunde geht. Die Chromidien rückeu an die Oberfläche, umgeben sich mit etwas Plasma nnd kapseln sich zu Sporen ein, die die Neninfektion vermitteln.

Die wichtigen Untersnchnngen SCHAUDINN's haben also knrzweg ergeben, daß bei den betreffenden Formen das Chromidialnetz die Anlage der Geschlechtskerne darstellt, die vegetativen Kerne aber vor der geschlechtlichen Fortpflanznng zugrunde gehen. Betrachten wir nun auf Grund dieser Tatsachen die Vorgänge bei Arcella. Auch hier gehen aus dem Chromidium Kerne hervor, die Primärkerne aber gehen zugrunde; die Sekundärkerne können sich mitotisch teilen und in zwei aneinanderliegenden Tieren zeigen die Kerne, daß sie sich geteilt haben. Aus vorher aneinanderliegenden Tieren aber sah BÜTSCHLI Amöben auskriechen, die CATTANEO sich in kleine Arcellen nmwandeln sah. Danach dürfte auch der Entwicklungscyklus der Arcella etwa folgendermaßen zu konstruieren sein: Arcella besitzt zwei vegetative Kerne und ein Chromidialnetz. Ans letzterem entstehen bei Beginn einer geschlechtlichen Periode die Kerne von Gameten, während die Primärkerne = Prinzipalkern zngrunde gehen. Die Geschlechtskerne machen eine zweimalige karyokinetische Teilung dnrch. Es legen sich zwei Individuen aneinander; die reduzierten Kerne umgeben sich mit Plasma und die amöboiden Gameten kopulieren mit denen des anderen Tieres oder es werden nur die Kerne ausgetauscht und kopulieren wie bei Infnsorien und Entamoeba coli. Um den Kopulationskern sondert sich Plasma oder es haben ja bereits zwei Amöben kopuliert und die Amöben kriechen aus den nun getrennten Tieren aus und bilden eine neue Schale. Die Encystierung kann in das vegetative Leben eingeschaltet sein wie bei Centropyxis und hat nichts mit der Fortpflanzung zu tun.

Ohne Zweifel bleibt das Chromidialnetz in seiner so erkannten Bedeutung für die Geschlechtsvorgänge der Protozoen nicht auf diese wenigen Formen beschränkt. Naturgemäß sind aber die betreffenden Vorgänge seit der Aufstellung des Chromidienbegriffs noch wenig untersucht worden. Daß auch bei anderen Amöben als den von SCHAUDINN untersuchten Chromidien von ähnlicher Bedeutung auftreten, geht aus einer neuerlichen Mitteilung von PROWAZEK (1904 c) hervor. Bei Entamoeba buccalis verdichtet sich das Chromatin

an der Kernperipherie, tritt in Brockenform in das Plasma über, das schließlich ganz von kleinen Chromatinkörnchen erfüllt ist. Der Kern wird ausgestoßen und das Plasma zerfällt in kleine kugelförmige Individuen, die sich wahrscheinlich encystieren. Auch freilebenden Amöben scheinen ähnliche Verhältnisse zuzukommen, wie sich aus noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von E. Neresheimer ergibt.

Auch bei Flagellaten wurde ein entsprechendes Chromidialnetz nachgewiesen und in seiner Bedeutung erkannt. Bei Bicosoeca fand Prowazek (1903) neben dem Kern zwei wurstartige mit einem Gerüst versehene Körper, die den Kern schwimmgürtelartig umfassen und sich selbständig von ihm teilen. Prowazek vergleicht sie direkt mit den Chromidien. Eine mit Bestimmtheit als Chromidialnetz anzusprechende Struktur beschreibt derselbe Forscher neuerdings (1904 b) für Bodo lacertae. Bei diesem Flagellaten tritt außer der gewöhnlichen typischen Form noch eine zweite auf, bei der neben dem Kern ein eigenartiger wurstförmiger Körper liegt, der nur mit Eisenhämatoxylin sich färbt. Bei der Teilung wird der Körper ebenfalls unabhängig vom Kern durchschnürt. Es hat sich nun herausgestellt, daß diese Formen die gametoide Generation darstellen und daß jener Körper sich als ein Chromidium, allerdings ein etwas modifiziertes erweist. Die geschlechtlichen Vorgänge können sich in Form einer Hetero- und Autogamie darstellen; letztere spielt sich innerhalb einer Cyste ab. Dabei beginnen aus dem Kern bis zu acht chromatinhaltige Bläschen auszutreten, die als Chromidien anzusprechen sind. Diese verschmelzen zu einem einheitlichen Geschlechtskern, der nach vorausgegangener Reduktion sich selbst befruchtet. Der ursprüngliche Kern erscheint dann schließlich nur noch als ein sich gleichmäßig färbender Klumpen. Der Chromidialkörper der freilebenden gametoiden Generation war demnach ein chromatinarmes, sozusagen unfertiges Chromidium.[1])

Ohne Zweifel findet sich der Chromidialapparat bei vielen anderen Protozoen in der gleichen Bedeutung. Vor allem dürfte dies für die Radiolarien nach Hertwig (1879) Geltung haben. Viele Angaben weisen darauf hin und die nächste Zeit wird uns jedenfalls noch manchen wichtigen Aufschluß bringen.

[1]) Dem wird sich wahrscheinlich die „Nukleolarmasse“ oder Marksubstanz von Acanthocystis und Raphidiophrys anschließen lassen, eine chromidialnetzähnliche, aber chromatinarme Substanz (Hertwig). Doch ist darüber noch zu wenig bekannt.

c) Die Bedeutung des Chromidialapparates.

Welche Ansichten sind nun bisher auf Grund der hier wiedergegebenen Tatsachen über die Bedeutung des Chromidialapparates geäußert worden? Eines steht zunächst fest, nämlich daß die Chromidialstrukturen dem Kernapparat zuzurechnen sind. Entweder ist ihre Herkunft aus dem Kern nachzuweisen oder sie geben umgekehrt neuen Kernen den Ursprung. Eine andere Frage ist es jedoch, ob die Chromidien zeitweilig den Kern ganz vertreten können oder nicht. Hertwig neigt zu dieser Annahme, besonders auf Grund von Beobachtungen bei der Teilung von Echinopyxis. Hier ist das Protoplasma beider Teilindividuen von einer faserigen Chromidialmasse durchsetzt, die aufgeteilt wird, ohne daß eine Spur von Kernen oder Spindeln nachzuweisen war. Es ist indessen Schaudinn (1903 a) gelungen, auch hier die Teilungsspindeln nachzuweisen; die sehr flüssigkeitsreichen Kerne werden nur leicht bei der Konservierung zerstört. Auch Hertwig's neuere Erfahrungen an Actinosphaerien sprechen gegen die Annahme, da Tiere, deren sämtliche Kerne in Chromidien aufgelöst sind, sich nicht mehr erholen können, wie es Hertwig früher annahm. Die Fälle, in denen sich der Prinzipalkern schon aufgelöst hat, während sich das Chromidialnetz noch zu den Geschlechtskernen umbildet, oder in denen der Kern sich zur Gametenbildung diffus auflöst (Coccidium), sind auch nicht hierfür anzuführen, da es sich da um Einleitung spezifischer Fortpflanzungsprozesse handelt. Als Beispiel des zeitweiligen Vertretens des Kerns durch Chromidien blieben danach nur die jungen Individuen der mikrosphärischen Generation von Polystomella vor Bildung des Prinzipalkerns nach Schaudinn übrig.

Als einen dauernden derartigen Zustand betrachten dagegen Hertwig wie Schaudinn die Verhältnisse bei Bakterien und Oscillatorien. Nach Hertwig's Deutung bestünde die Bakterienzelle aus einem Protoplasma, dem ein Chromidialnetz eingelagert ist. Erfüllt dieses die ganze Zelle, so erscheinen die Bakterien, die nach Bütschli's ursprünglicher Deutung (1896) nur aus Kernsubstanz bestehen, ist das Chromidialnetz dagegen zurückgezogen, so erscheinen auch rein plasmatische Partien, die von dem Zentralkörper Bütschli's (1890, 1896) gesondert erscheinen. Ähnliche Ideen entwickelt Schaudinn (1902) für Bacillus bütschlii. Bei dieser Bakterie soll die Kernsubstanz während des vegetativen Lebens in Form chromatischer Körnchen (Chromidien) im Plasma zerstäubt sein und sich nur bei der Sporenbildung zu einem morphologisch als

Kern anzusprechenden Gebilde verdichten. Ähnliches liegt nach Schaudinn (1903 b) bei Bacillus sporonema vor, nur daß hier die kernartige Bildung bei der Sporenanlage unterbleibt. In bezug auf die Deutung ist jedoch Schaudinn sehr reserviert. Man wird überhaupt wohl gut tun, die Bakterien vor der Hand aus dem Spiel zu lassen. Die Anwesenheit eines kernartigen Zentralkörpers ist für viele Bakterien sichergestellt und für Cyanophyceen ist sogar eine mitotische Teilung des Zentralkörpers festgestellt; neuerdings konnte man sogar bei einem Bakterium eine Art von Mitose nachweisen und so wird es gut sein, hier weitere Forschungen abzuwarten.

Eine andere die Chromidien betreffende Frage ist von Hertwig aufgeworfen, nämlich ihre Beziehungen zum Protoplasma. Bei den mit einem Chromidialnetz ausgestatteten Heliozoen ist das Plasma so sehr zurückgedrängt, daß es denkbar wäre, daß dem Chromidium ein Teil der Fähigkeiten des Protoplasma zukäme, oder anders ausgedrückt, daß in das Chromidium färbbare Substanzen abgespalten sind, die sonst dem Plasma angehören. Hertwig bringt dies mit früher von ihm geäußerten Ansichten zusammen, um daraus neue Vorstellungen von der Substanzverteilung in der tierischen Zelle zu gewinnen. Er nimmt an, daß das achromatische Gerüst des Plasma Chromatin in gebundener Form enthält, das in bestimmten Zuständen vom Plasma abgespalten und dem Kern zugeführt wird. Organisiert ist dagegen das Chromatin nur im Kern enthalten, organisiert durch die Nukleolarsubstanz. Von diesem Schema weichen nun gewisse Protozoen ab. Bei Actinosphaerium ist das Protoplasma chromatinarm, dafür wird es von organisiertem Chromatin, das vom Kern stammt, durchsetzt. Bei den Süßwassermonothalamien ist dagegen das Plasma rein achromatisch, desgleichen die Kerne, das Chromatin ist in organisiertem Zustand als Chromidialnetz im Plasma verteilt. Die Infusorien verhalten sich wie eine gewöhnliche Zelle, ihre Doppelkernigkeit ist ein Ding sui generis. Als Quintessenz dieser Anschauungen ergibt sich für die Chromidien und das Chromidialnetz eine wesentliche Bedeutung für den Haushalt der Protozoenzelle. Bei lebhafter Inanspruchnahme von tierischen Zellen wird Chromatin vom Plasma abgespalten und dem Kern zugeführt, hier ist dies dauernd geschehen. Die Bedeutung des Chromidiums liegt also jedenfalls auf der Seite des Stoffwechsels.

Zu ganz anderen Anschauungen wurde Schaudinn durch seine Rhizopodenuntersuchungen geführt. In allen den oben besprochenen Fällen ergab es sich, daß aus den Chromidien die Kerne

der Geschlechtsindividuen gebildet wurden, während der eigentliche Kern, der Prinzipalkern nur im vegetativen Leben bestand und bei der Gametenbildung verschwand. Schaudinn zieht daraus die Folgerung, daß in diesen Fällen das Chromidialnetz nichts anderes ist als die Substanz der Geschlechtskerne, die während des vegetativen Lebens bereits gesondert besteht, während der Prinzipalkern der vegetative Kern ist. Zieht man nunmehr einen Vergleich mit der Doppelkernigkeit der Infusorien, so ergibt sich, daß der vegetative Kern dem Makronuklens entspricht, wie dieser auch bei Beginn der Geschlechtstätigkeit zugrunde geht. Die Chromidien aber entsprechen den Mikronuklei der Infusorien. „Der Unterschied besteht bloß darin, daß wegen der Verknüpfung der Brutbildung mit den Kopulationsvorgängen die Geschlechtskernsubstanz . . . . in viel größeren Quantitäten vorhanden ist . . . .“ Eine Zwischenstellung nimmt sozusagen die Entamoeba coli ein. Hier ist Stoffwechsel und Geschlechtskernsubstanz während des vegetativen Lebens zu einem Kern vereinigt, zur Trennung kommt es nur vor der Kopulation, dann wird die Substanz des Stoffwechselkerns oder er selbst ganz ausgestoßen oder in anderer Art vernichtet, für kurze Zeit tritt ein Chromidium auf, aus dem sich die Geschlechtskerne differenzieren.“

II.

Dies sind also die Tatsachen und Schlüsse, die uns bisher über den Chromidialapparat vorliegen. Ergibt sich daraus eine Möglichkeit, uns über diese merkwürdigen Dinge Vorstellungen zu bilden, die eine Grundlage für weiteres Forschen abgeben, die vielleicht für den gesamten Zellbegriff fruchtbringend werden? Da müssen wir uns denn zuerst die Frage vorlegen, ob der Begriff der Chromidien etwas Einheitliches ist, ob nicht die verschiedenen Deutungen in einer Verschiedenheit der Begriffe ihre Ursache haben. Und dies ist in der Tat nach unserer Auffassung der Fall. Betrachten wir die Dinge allerdings rein morphologisch, so liegt unzweifelhaft ganz Gleichartiges vor: Stets Chromatinteile, die dem Kern entstammen und im Protoplasma liegen. Anders liegt es aber, wenn wir die Sache funktionell, physiologisch betrachten, wobei natürlich die Richtigkeit der beobachteten Tatsachen Voraussetzung ist. Vergleichen wir unter diesem Gesichtspunkt die Chromidien des Actinosphaerium mit denen der Thalamophoren, so ergibt sich ein prinzipieller Gegensatz. Erstere werden im Zusammen-

hang mit der Zellfunktion aus dem Kern gebildet, sie stehen in engster Beziehung zu dem Stoffwechsel des Tieres. Gar nichts haben sie sicher mit den Geschlechtsvorgängen zu tun. Wollen wir sie mit der Infusorienzelle in Beziehung setzen, so entsprechen sie Teilen des Makronukleus oder einem netzförmig ausgebildeten Makronukleus. Anders das Chromidialnetz der Thalamophoren. Hier ist keine Beziehung zu dem Stoffwechsel des Tieres ersichtlich,[1]) das Chromidialnetz bildet die Kerne der Gameten, die Befruchtungskerne, die gewöhnlichen Kerne der Tiere aber (der Prinzipalkern) verschwinden mit dem Eintreten dieser Periode. Der Vergleich mit den Infusorien ergibt somit die Homologisierung des Chromidialnetzes mit dem Mikronukleus, des Prinzipalkerns mit dem Makronukleus. Die morphologisch identischen Chromidien entsprechen also physiologisch betrachtet bald dem Makro-, bald dem Mikronukleus der Infusorien, d. h. aber mit anderen Worten der Begriff der Chromidien ist kein einheitlicher. Hertwig selbst drückt sich bei Aufstellung des Chromidienbegriffes in dieser Hinsicht bereits vorsichtig aus und neuerdings (1904) sagt er direkt: „Der von mir früher gemachte Vergleich ist insofern berechtigt, als es sich um Strukturen von ähnlicher morphologischer Beschaffenheit handelt. Auch das Chromidialnetz der Thalamophoren besteht nach meiner Deutung aus Vereinigung der zwei bei den meisten Protozoen morphologisch noch nicht gesonderten Substanzen, Nukleolarsubstanz und Chromatin. Aber die physiologische Wertigkeit von Chromidien und Chromidialnetz ist nicht ganz die gleiche." Die Begründung dieser Anschauung weicht dagegen gänzlich von der hier gegebenen ab. „Das Chromidialnetz der Thalamophoren ist nach meiner Auffassung der Hauptsitz der funktionellen Tätigkeit des Kerns; es kann daher auch der Ausgangspunkt für die Bildung neuer Kerne werden. Die Chromidien des Actinosphaerium dagegen scheinen mir vorwiegend überschüssige aus dem Kern heraustretende und ohne weitere Funktion zugrunde gehende Teile zu sein, desgleichen wohl auch die oben erwähnten Chromidien der Eizellen. Sie treten im Laufe des Stoffwechsels der Zelle auf. Wenn die Chromatinmasse des Kerns bei seiner Funktion sich vergrößert, muß sie, damit eine weitere Funktion möglich sei, zum Teil rückgebildet werden; dies

[1]) Ich glaube allerdings, daß das Chromidialnetz der Thalamophoren nicht ausschließlich Geschlechtskernsubstanz sein muß. Es kann in gewissen Fällen zweifellos auch Chromatinteile enthalten, die den Chromidien des Actinosphaerium entsprechen.

geschieht, indem Teile der Chromatinrosette in das Protoplasma eliminiert werden.“ Hertwig betrachtet also gerade das Chromidialnetz der Thalamophoren als den Sitz der funktionellen Tätigkeit des Kerns. Nicht wird damit erklärt, warum bei Bildung der nenen Kerne aus dem Chromidialnetz die alten zugrunde gehen. Dies findet aber durch Schaudinn's eindeutige Befunde seine Erledigung und wir schließen, daß die Chromidien des Actinosphaerium vegetativer Natur sind; das Chromidialnetz der **Thalamophoren** entspricht ihnen nicht, sondern vielmehr deren vegetativer Prinzipalkern, wenn ein Vergleich überhaupt möglich ist, was später zu besprechen ist.

Halten wir somit die Heterogenität der beiden Begriffe für erwiesen, so ist es, um weitere Verwirrungen zu vermeiden, angebracht sie voneinander zu trennen. Im weiteren Sinne läßt sich der Begriff der Chromidien auch fernerhin beibehalten, wenn chromatische Kernbestandteile im Plasma besprochen werden, über deren Bedeutung nichts ausgesagt werden kann. Ist ihr Schicksal aber bekannt, so frägt es sich, welcher der beiden Kategorien sie zuzurechnen sind. Sollen wir nun den Terminus Chromidien für die vegetativen Gebilde des Actinosphaerium oder für das Geschlechtskernnetz der Thalamophoren beibehalten? Ich möchte ersteres vorschlagen, da es am meisten mit der ursprünglichen Deutung Hertwig's harmoniert und vor allem, weil es sich erwiesen hat, daß dieser Chromidienbegriff für die gesamte Zellenlehre ungemein fruchtbar ist. Nachdem Hertwig auf die Identität der Chromidien mit chromatischen Partikeln, die bei Ei- und Drüsenzellen aus dem Kern in das Plasma treten, bereits hingewiesen, habe ich versucht auf Grund von Studien an Gewebezellen verschiedener Art den Nachweis zu führen, daß diese Chromidienbildung eine Fähigkeit aller stark funktionierenden Zellarten ist und daß unter diesem Gesichtspunkt zahlreiche bisher unverständliche Erscheinungen der Metazoenzelle dem Verständnis nähergerückt werden (Goldschmidt 1904). Da die ausführliche Arbeit mit den diesbezüglichen Erörterungen sich noch im Druck befindet, möchte ich es bei diesem Hinweis bewenden lassen.

Anders steht es mit dem Geschlechtskernnetz der Thalamophoren und der anderen erwähnten Protozoen. Hier haben wir es mit einer Einrichtung zu tun, die der speziellen Fortpflanzungsart dieser Formen angepaßt ist, der Fortpflanzung durch Zoosporen oder Gameten. Die Geschlechtskernsubstanz ist in besonders großen Quantitäten vorhanden

wegen „der Verknüpfung der Brutbildung mit den Kopulationsvorgängen“ (SCHAUDINN 1903). Oder mit anderen Worten die Kerne der Geschlechtsgeneration liegen in Form von Chromatinpartikeln oder eines Netzes während des vegetativen Lebens des betreffenden Protozoon bereits reserviert. Für diese Bildung sei zum Unterschied von den echten Chromidien die Bezeichnung **Sporetien, Sporetium** vorgeschlagen. Dies dürfte unseren jetzigen Kenntnissen am besten entsprechen.

Es wurde des öfteren in Anlehnung an SCHAUDINN von Geschlechtskernen und vegetativen Kernen gesprochen. Ist denn eine solche Unterscheidung außer bei den Infusorien berechtigt? Unsere jetzigen Kenntnisse von der Protozoenzelle haben unzweifelhaft diese Sonderstellung der Infusorien erschüttert. Die Zahl der Fälle, in denen diese prinzipielle Doppelkernigkeit der Protozoenzelle zum Ausdruck kommt, mehrt sich fortgesetzt. SCHAUDINN's Untersuchungen haben für die oben besprochenen Thalamophoren und Rhizopoden den unzweifelhaften Beweis erbracht, für Flagellaten wies es PROWAZEK nach. In diesen Fällen kam die Doppelkernigkeit so zum Ausdruck, daß ein oder mehrere vegetative Kerne als Prinzipalkerne, die Substanz der Geschlechtskerne als Sporetium vorhanden war. In anderer Form wurde die gleiche Differenzierung von SCHAUDINN (1904) für Trypanosoma und Spirochaete, von PROWAZEK (1904a) für Herpetomonas erwiesen. Typisch zeigen das gleiche Verhalten auch die Gregarinen nach den Untersuchungen von CUÉNOT (1901), PROWAZEK (1902), BERNDT (1902), LÉGER (1904) und auch für einen Pilz Basidiobolus konnte es durch LOEWENTHAL (1903) wahrscheinlich gemacht werden. Also so ziemlich für alle Protozoengruppen liegen Beweise in dieser Richtung vor, für andere wie die Radiolarien läßt das vorhandene Material den gleichen Nachweis erwarten.

Sehen wir also zu, zu welchen Anschauungen uns der gewandelte Chromidienbegriff geführt hat, so ist das Hauptresultat die Doppelkernigkeit der **Protozoen**zellen. Sie erweist sich in der verschiedensten Art durchgeführt, kompliziert dadurch, daß jeder der beiden Kernarten die Fähigkeit zukommt, in Form von Chromidien (im weiteren Sinne) aufzutreten. Ist es der vegetative Kern oder meist nur Teile von ihm, dann reden wir von echten Chromidien, ist es der Geschlechtskern, dann haben wir Sporetien. Also auch die echten Chromidien

sind ein Ausdruck der Doppelkernigkeit. Im einfachsten Fall liegt es wie bei den Infusorien, beide Kernarten sind als solche nebeneinander vorhanden, bei der geschlechtlichen Fortpflanzung tritt der Geschlechtskern in Tätigkeit und bildet nach der Befruchtnng den verbrauchten vegetativen Kern nen. Dasselbe Verhältnis liegt bei den Formen mit Sporetium vor, etwas kompliziert nur dadurch, daß die Bildung zahlreicher Geschlechtszellen, Gameten, dem Geschlechtskern die Form eines Sporetium gibt. Wieder ein Schritt zur Komplikation ist gegeben, wenn die Trennnng beider Kerne nur zeitweilig zum Zweck der geschlechtlichen Fortpflanzung geschieht, wie bei den Gregarinen (Sporoblasten- und Restkörperkerne). Jeder Kern aber ist funktionsfähig, macht seine Teilungen durch. Am schwierigsten ist schließlich die Erkennnng beider Kernarten, wenn sie sich nnr kurz vor der geschlechtlichen Fortpflanzung trennen (Entamoeba coli) und der vegetative Teil gleich zngrunde geht.

Während also alle Tatsachen zu dieser von Schaudinn begründeten Anschauung drängen, möchte ich doch eine noch nicht überbrückte Schwierigkeit nicht unterlassen anzuführen. Es sind die Verhältnisse des Actinosphaerium. Wohl zeigt hier die vegetative Kernsubstanz ihre Existenz in Form von Chromidien. Dagegen fehlen bisher alle Anhaltspunkte für die Existenz gesonderter Geschlechtskerne. Zwar gehen nach Hertwig's bekannten Untersuchnngen (1898) vor der Einleitung der geschlechtlichen Vorgänge die meisten Kerne zugrunde, sie wären also vegetativer Natur, wie anch ihre Fähigkeit, sich völlig in Chromidien umzuwandeln, beweist. Es wurde aber von Hertwig keinerlei Differenz der erhaltenen Kerne beobachtet, auch nicht bei der Mitose, wie es z. B. bei den Gregarinen nach Léger der Fall ist. Wir müssen also hier zunächst eine Lücke lassen, die aber vielleicht durch neue Beobachtungen überbrückt wird.

Zum Schluß noch ein Ausblick. Es ist bisher meist von den Zellforschern ängstlich vermieden worden, die Resultate der Protozoenforschung zu der Metazoenzelle in Beziehung zu setzen. Manche Auswüchse der Zellforschung wären dadurch sicher hintangehalten worden. An diesen neuesten Gesichtspunkten, die für die Protozoenzelle gewonnen wurden, kann auch die zünftige Cytologie nicht vorübergehen. „Die Aufgabe der weiteren Forschung wird es nun sein, auch die Zellen der höheren Wesen auf das Vorhandensein dieser zwei bei gewissen Protozoen für verschiedene Zwecke ausgebildeten Kernbestandteile, der Stoffwechsel- und Geschlechtskernsubstanz, zu untersuchen

und ihr Verhalten zueinander festzustellen" (SCHAUDINN 1903). Der Beginn dazu ist, glaube ich, gemacht. Von dem Studium der Metazoenzelle ausgehend, wurde ich zu der prinzipiell gleichen Überzeugung geführt wie SCHAUDINN von den Protozoen her, und glaube in der Tat auch dort die beiden Kernarten resp. ihren morphologischen Ausdruck nachweisen zu können. Wegen der Begründung muß ich auf die wohl bald erscheinende Arbeit hinweisen. Eines wird aber wohl mit Sicherheit aus diesen Andeutungen bereits hervorgehen: die ungemein fruchtbare Wirkung der Schaffung des Chromidienbegriffs.

München, Juni 1904.

Literaturverzeichnis.

1902. BERNDT, A.: Beitrag zur Kenntnis der im Darme der Larve von Tenebrio molitor lebenden Gregarinen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. I.

1874. BÜTSCHLI, O.: Zur Kenntnis der Fortpflanzung bei Arcella vulgaris. in: Arch. mikr. Anat. Bd. XI.

1890. —: Über den feineren Bau der Bakterien und verwandten Organismen. Leipzig (Engelmann) 1890.

1896. — Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig (Engelmann) 1896.

1878. CATTANEO, G.: Intorno all' ontogenesi dell' Arcella vulgaris. Atti Soc. Ital. Sc. nat. Bd. XXI.

1901. CUÉNOT, L.: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. in: Arch. f. Biol. T. XVII.

1904. DRZEWECKI, W.: Über vegetative Vorgänge im Kern und Plasma der Gregarinen des Regenwurmhodens. in: Arch. f. Protistenk. Bd. III.

1904. GOLDSCHMIDT, R.: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. (Vorl. Mitteil.) Biol. Zentralbl. Bd. XXIV.

1879. HERTWIG, R.: Der Organismus der Radiolarien. Jena 1879.

1887. —: Über Kernteilung bei Infusorien. in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München Bd. III.

1898. —: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni. in: Abh. bayr. Akad. d. Wiss. Bd. XIX.

1899a. —: Was veranlaßt die Befruchtung bei Protozoen? in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München Bd. XVI.

1899b. —: Über Encystierung und Kernvermehrung bei Arcella vulgaris. in: Festschr. f. C. v. KUPFFER.

1902. —: Die Protozoen und die Zelltheorie. in: Arch. f. Protistenk. Bd. I.

1904. —: Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium Eichhorni. in: Festschr. f. E. HAECKEL.

1904. LÉGER, L.: La réproduction sexuée chez les Stylorhynchus. in: Arch. f. Protistenk. Bd. III.

1903. Loewenthal, W.: Beiträge zur Kenntnis des Basidiobolns lacertae Eidam. in: Arch. f. Protistenk. Bd. II.
1902. Prowazek, S.: Zur Entwicklnng der Gregarinen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. I.
1903. —: Flagellatenstudien. in: Arch. f. Protistenk. Bd. II.
1904a. —: Die Entwicklnng von Herpetomonas. in: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XX.
1904b. —: Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Ibid. Bd. XXI.
1904c. —: Entamoeba bnccalis n. sp. Ibid.
1895. Rhumbler, L.: Beiträge znr Kenntnis der Rhizopoden. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 41.
1878. —: Zelleib-Schalen- und Kernverschmelzungen bei den Rhizopoden etc. in: Biol. Zentralbl. Bd. XVIII.
1895. Schaudinn, F.: Über den Dimorphismus der Foraminiferen. in: Sitz.-Ber. d. Ges. natnrf. Fr. Berlin.
1902. —: Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. in: Arch. f. Protistenk. Bd. I.
1903a. —: Untersuchnngen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. in: Arb. a. d. kaiserl. Gesnndheitsamte Bd. XIX.
1903b. —: Beiträge znr Kenntnis der Bakterien nnd verwandter Organismen. II. in: Arch. f. Protistenk. Bd. II.
1904. —: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma nnd Spirochaete. in: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XX.

(Aus der kgl. bayr. biolog. Versuchsstation für Fischerei in München.)

Über die Drehkrankheit der Salmoniden.
[Lentospora cerebralis (Hofer) Plehn.]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

Dr. Marianne Plehn.

(Hierzu Tafel V und 7 Textfiguren.)

Unter dem Namen „Drehkrankheit" ist den Praktikern seit einigen Jahren eine epidemische Krankheit bekannt, die bei jungen Regenbogenforellen häufig ist, aber auch bei anderen Salmoniden schon beobachtet wurde. Die meisten Fälle kommen in Norddeutschland vor, vereinzelt trat die Krankheit auch in Süddeutschland auf; aus anderen Ländern fehlen einstweilen die Nachrichten. Es werden nur ganz junge Fischchen befallen; meist setzt das Leiden ein, wenn sie wenige Monate alt sind; bei älteren Fischen — schon bei Jährlingen — treten Neuerkrankungen nicht ein. Der Verlauf ist oft ein sehr langsamer, die Krankheit kann sich ein Jahr und länger bemerklich machen, und der Patient kann doch mit dem Leben davon kommen, sie führt aber auch nicht selten rasch zum Tode.

Während aus einigen Anstalten berichtet wird, daß jeder drehkranke Fisch als verloren zu betrachten ist, bringen die best eingerichteten Züchtereien oft die große Mehrzahl der Erkrankten durch; sorgfältige Pflege vermag sie zu retten, der Verlust beträgt nur wenige Prozent, und die Überlebenden sollen auch nur wenig im

Wachstum zurückbleiben. Die Prognose ist also je nach den allgemeinen hygienischen Bedingungen der Züchterei verschieden, aber der Verlauf hängt sicher nicht allein von der Behandlung ab; von vornherein tritt die Seuche einmal ganz außerordentlich stürmisch auf und hat ein anderes Mal die Tendenz, langsamer und milder sich zu entwickeln. Daher lauten die Mitteilungen der Praktiker sehr verschieden.

Bei meinen Untersuchungen konnte ich bis jetzt nur die langsam verlaufende Form der Krankheit studieren; auf diese beziehen sich alle meine Angaben. Wahrscheinlich wird die akute Krankheit aus ganz anderen Ursachen zum Tode führen und ganz andere mikroskopische Bilder liefern, die zu einem gründlichen Einblick in den ganzen Vorgang eigentlich unentbehrlich sind. Ich hoffe in nicht zu langer Zeit über das Fehlende berichten zu können.

Das augenfälligste Symptom sind Bewegungs- und Gleichgewichtsstörungen. Die Fischchen machen heftige, kreisende Bewegungen; sie wirbeln 20 bis 30 mal schnell im Wasser umher; manche drehen immer in gleicher Richtung, links oder rechts, andere wechseln im Anfall plötzlich die Richtung, doch kommt das selten vor, gewöhnlich wird sie eingehalten; dann beruhigen sich die Patienten vorübergehend, um bald wieder den unruhigen Tanz zu beginnen, der ihnen offenbar arge Qualen bereitet; sie atmen krampfhaft und schnell, halten dann nach einiger Zeit erschöpft inne, verharren wohl auch eine Weile in Seitenlage oder liegen ermattet am Boden und gewinnen erst allmählich das Gleichgewicht wieder und kehren in die normale Lage zurück.

Die Anfälle treten in sehr verschiedenen Intervallen auf; in der Anfangsperiode kommen sie anscheinend spontan, und können sich wochenlang mehrmals täglich wiederholen; später werden sie seltener, doch beobachtet man sie zuweilen plötzlich von neuem bei Fischchen, die seit Monaten nichts mehr merken ließen. — In den Aquarien der kgl. bayr. biolog. Versuchsstation für Fischerei sah man die Dreh- und Taumelbewegungen am heftigsten eintreten bei Fischen, die eben zur Untersuchung eingeliefert waren, die bei ihrer Ankunft noch von einem langen Eisenbahntransport ermattet und beunruhigt waren. Die etwa 30 jungen Regenbogenforellen, die wir erhielten, fuhren in ihrem Aquarium so wild und rasend durcheinander, daß man hätte meinen können, sie seien tobsüchtig geworden. Bald aber ließ die Aufregung nach; nach einigen Ruhetagen kamen die Anfälle viel seltener; ein paar Wochen später wurden sie nur noch beobachtet, wenn man die Fischchen erschreckte und störte, oder wenn

sie nach ihrem Futter schnappten und dabei rasche Bewegungen auszuführen hatten. Sie fressen nämlich anfangs so gierig wie gesunde, man kann sie daher leicht monatelang halten und die langsamen Veränderungen, die mit ihnen vorgehen, verfolgen. — Die Lebensbedingungen sind natürlich selbst im best gehaltenen Aquarium nicht ganz so gute wie im Freien, im Teich, und so erklärt es sich wohl, daß die Kranken bei uns durchweg größere oder geringere Abnormitäten aufweisen, die dort seltener sind. Eine der äußerlich auffälligen Veränderungen ist auch im Teich häufig, leitet oft sogar die Krankheit ein; dies ist eine Verfärbung des Schwanzendes; es verliert die Fähigkeit des Farbenwechsels und erscheint dunkler als der übrige Körper, zuweilen fast schwarz; je nach dem Allgemeinbefinden, je nach Temperatur und Sauerstoffgehalt des Wassers ist die Forelle auch im Aquarium blasser oder kräftiger gefärbt; je nachdem also ist der Kontrast zwischen der wechselnden Körperfarbe und der gleichbleibenden Schwanzfarbe schwächer oder schärfer. Die Verfärbung kann auf die Region der letzten Schwanzwirbel beschränkt bleiben, wo sie immer zuerst sichtbar wird, oder sie kann sich von dort aus nach vorn weiter ausbreiten, bis in die Gegend der Rückenflosse, wie in Fig. 1. — Bei genauer Betrachtung beobachtet man, daß die Wirbelsäule in diesen schwarzen Schwänzen



Fig. 1.

knotenförmige Anschwellungen zeigt; der tastende Finger nimmt das noch deutlicher wahr als das Auge. Zuweilen ist, wie in der Abbildung, die Wirbelsäule verkrümmt.

Während in den früheren Stadien der Krankheit, in denen die Taumelbewegungen am wildesten zu sein pflegen, am Kopf äußerlich nicht das Geringste zu bemerken ist, stellen sich im Verlauf der Wochen und Monate Wachstumsanomalien ein, die mit der Zeit immer deutlicher werden. Häufig sieht der Kopf schief aus, die eine Schädelhälfte wächst stärker als die andere; sehr oft sieht man flache, beulenartige Verdickungen von sehr verschiedener Größe an einer oder an mehreren Stellen; mit Vorliebe sind die Kiemendeckel betroffen; von den Kiemenbogen kann einer oder mehrere abnorm weit vorstehen; nicht selten sehen die Fischchen (wie der in Fig. 1 abgebildete) bucklig aus; bei Präparation zeigt sich dann, daß die Wulst der Nackengegend auf eine Verdickung der Halswirbel zurückzuführen ist. Die Wirbelsäule ist hier wie zuweilen in den erkrankten Schwänzen etwas verkrümmt. Eine der häufigsten Deformitäten ist eine geringere Beweglichkeit des Kiefergelenkes, die sich bis zu völliger Unbeweglichkeit steigern kann. Die abgebildete kleine Regenbogenforelle konnte ihr Maul nicht schließen, sie hielt es dauernd weit geöffnet. Natürlich ist dann die Nahrungsaufnahme stark gehindert oder im extremen Fall schließlich ganz unmöglich gemacht. In der Mehrzahl der Fälle erscheint, auch bei leidlich gut erhaltener Beweglichkeit, der Unterkiefer verengt, die Articularia einander zu nah, wie die Figur zeigt; dies beruht auf einem Zurückbleiben im Wachstum der betreffenden Skeletteile. — Einige Male sah ich leichten Exophthalmus auf einer oder auf beiden Seiten auftreten. — Wenn die Tiere der Krankheit erliegen, so geschieht das in der Regel, nachdem sie längere Zeit nicht gefressen haben unter ganz allmählichem Sinken der Kräfte; sie sind zuweilen tagelang in Rückenlage, ehe das Ende eintritt. Ein Verenden im Anfall oder kurz danach habe ich nicht gesehen.

Während längere Beobachtungen der Patienten und der an ihnen eintretenden Veränderungen mit Sicherheit auf eine Krankheit schließen lassen, an der das Skelet in hervorragendem Maße beteiligt ist, lenkt sich die Aufmerksamkeit in erster Linie auf das zentrale Nervensystem, solange nur die frühen Stadien zur Beobachtung kommen. Die tobsuchtartigen Anfälle, die anfangs das Krankheitsbild beherrschen, führten naturgemäß auf die Vermutung, es handle sich um eine Gehirnerkrankung. Die ersten Untersuchungen, die von Professor Hofer ausgeführt wurden, richteten sich daher auf das zentrale Nervensystem. Er fand in Zupfpräparaten des Gehirns nicht selten eine Myxosporidienspore und sah diesen Parasiten als Erreger der Krankheit an. In seiner ersten

Publikation (Allgem. Fischereiztg. Nr. 11, 1903) gab er ihm den Namen Myxobolus cerebralis. — Die genauere Untersuchung wurde dann mir übertragen, und erst die durch den ganzen Kopf des Fischchens hergestellten Schnittserien enthüllten die wahre Natur der Krankheit. Sie zeigten in dem erwähnten Parasiten allerdings den Erreger, es stellte sich aber heraus, das sein Sitz nicht das Gehirn selbst ist, in welches er nur gelegentlich bei der Präparation hineingelangt, sondern daß er sich immer und ausnahmslos im Skelet oder in dessen bindegewebiger Hülle findet. In seinem „Handbuch der Fischkrankheiten“, in dem die Sporen zuerst abgebildet wurden und wo der eben erwähnte Befund berichtet wird, ändert daher Prof. Hofer meinem Vorschlag gemäß den Speziesnamen cerebralis in den passenderen chondrophagus um. Leider haben wir damals beide die Nomenklaturregeln des V. internationalen Zoologenkongresses außer acht gelassen, die ja eine solche Namenänderung nicht gestatten. Hiermit wird also zu dem ersten Speziesnamen zurückgekehrt werden müssen; unser Parasit wird als „cerebralis“ sein Zerstörungswerk weiter verrichten, das sich niemals aufs Gehirn erstreckt. — Auch zu seinem ersten Genusnamen muß eine Bemerkung gemacht werden. Die Fig. 2 läßt keinen Zweifel, daß es sich um ein Myxosporidium handelt; untersucht man die Sporen in konserviertem und gefärbtem Zustand, oder auch frisch ohne Zusatz, so würde man nicht zögern, sie einem Myxobolus zuzusprechen, wie Prof. Hofer das getan hat. Bei Jodzusatz zeigt sich indessen, daß eine jodophile Vakuole nicht vorhanden ist; eine solche wird aber seit Thélohan's grundlegendem Werk: Recherches sur les Myxosporidies, allgemein als Merkmal der Myxobolusspore angesehen; seine Auffassung ist seither immer anerkannt worden, so von Gurley (The Myxosporidia or Psorospermes of Fishes, 1894), Labbé (Sporozoa, 1899 in: Das Tierreich), Doflein (Protozoen als Parasiten, 1901), Hofer (Handbuch der Fischkrankheiten, 1903) und viele andere. — Der Gattungsname Myxobolus kann also nicht beibehalten werden, obwohl der Parasit — abgesehen eben von der fehlenden Vakuole — in jeder Beziehung mit den zahlreichen sonst bei Fischen bekannten Schmarotzern dieses Genus vortrefflich übereinstimmt.

Von den übrigen Myxosporidienfamilien könnte nur die der Myxidiidae allenfalls Anspruch auf den Parasiten erheben.

Thélohan's bisher allgemein anerkannte Diagnose lautet: Sporen ohne jodophile Vakuole, 2 Polkapseln. — Da ist also kein Widerspruch mit dem Erreger der Drehkrankheit. Die Übereinstimmung

mit den bekannten 4 Myxidiidengattungen ist aber gering; unser Parasit gehört weder zu Sphaerospora noch zu Leptotheca, weder zu Myxidium noch zu Myxosoma. Will man ihn also den Myxidiidae einreihen, was mir vorläufig das Beste zu sein scheint, so muß ein neues Genus für ihn errichtet werden, welches ich Lentospora zu nennen vorschlage. — Ich kann freilich die Vermutung nicht unterdrücken, daß bei einer künftigen Umordnung des Systems die Lentospora doch mit den Myxoboliden vereinigt werden wird; natürlich nur, wenn sich noch andere Familienglieder finden, denen die Vakuole fehlt und deren Zugehörigkeit doch ohne Zweifel ist. — Die ganze Einteilung der Myxosporidien ist ja, wie von allen Spezialisten zugegeben wird, heute noch eine sehr provisorische; neue Forschungen werden sie umgestalten und sie werden vermutlich den Wert der jodophilen Vakuole als Haupteinteilungsprinzip in Frage stellen.

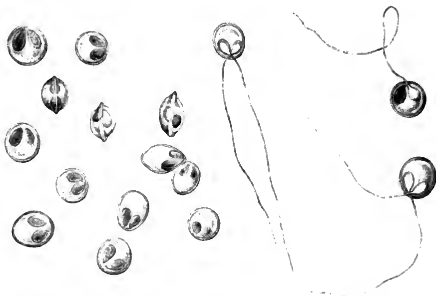


Fig. 2. Vergr. 1200×. Sporen in frischem Zustand. — Bei dreien sind durch Behandlung mit Kalkwasser die Polfäden ausgestreckt.

Die Lentospora (mihi) cerebralis (Hofer) ist zunächst interessant als Erreger einer der bedenklichsten Salmoniden-Kinderkrankheiten; schon dadurch sondert sie sich von den Myxidiiden,

die, soviel bis jetzt bekannt ist, harmlose Schmarotzer sind, jedenfalls keine Epidemien erzeugen. Sie ist aber auch biologisch interessant, insofern sie in einem Gewebe lebt, in dem bisher noch keine Myxosporidien angetroffen wurden. Man kannte ihrer viele in allen übrigen Organen der Fische, im Darm, in Leber, Milz und Niere, in den Körpermuskeln und im Herzen, in der Haut, in den Kiemen, im Nervensystem und in den Geschlechtsorganen; überall mit Ausnahme des Skelets waren sie gefunden. Hier zeigt sich nun, daß auch dieses vor ihren Angriffen nicht sicher ist.

Fig. 2 stellt die Sporen des Parasiten in verschiedenen Ansichten dar; man sieht — und ich lege Wert darauf, das hervorzuheben — ihre Gestalt und Größe ist durchaus nicht so gleichmäßig, wie gemeinhin für Myxosporidiensporen angenommen wird. Wenn auch der Kontur sich der Kreisform nähert, so gibt es doch zahlreiche Abweichungen; bei vielen Sporen ist die Längsachse, bei einigen die Querachse die längere; der Durchmesser beträgt meist 7—9 μ. doch habe ich auch Sporen von 6 und solche von 10 μ gemessen. Die Polkapseln sind etwa $^2/_5$ so lang wie die Spore; im allgemeinen sind sie gleich groß, doch sind Unregelmäßigkeiten nicht selten. [Diese Beobachtung veranlaßte mich, bei einer Anzahl von Myxobolus-Sporen verschiedener Spezies Messungen vorzunehmen, und dabei stellte sich heraus, daß die individuellen Schwankungen bei allen sehr erheblich sind; man wird also zur Bestimmung immer eine größere Anzahl von Sporen benutzen und Mittelwerte gewinnen müssen.] Die Sporenkapsel hat einen deutlich hervorspringenden Rand. Im ungefärbten Zustand ist weiter nichts zu sehen; der Sporozoit tritt nicht hervor, eine Vakuole ist mit Jod nicht darstellbar und seinen Kern erkennt man erst nach Färbung. Die Fig. 3 zeigt zwei gefärbte Sporen mit dem charakteristischen Doppelkern des Sporozoiten, die Kerne liegen stets in der abgebildeten Weise einander unmittelbar an; das Chromatin liegt immer in der Kernwand, weshalb die Kerne auf Schnitten als kleine Ringe zu erscheinen pflegen. — Noch zwei andere, gewöhnlich kompakte Chromatinhäufchen enthält die Spore, die den Polkapseln angelagert zu sein pflegen, aber an verschiedenen Stellen liegen können. Ich halte sie für degenerierte Kernreste der Zellen, aus denen die Polkapseln entstanden sind. — Leider vermag ich über die Bildung der Sporen noch so gut wie keine Angaben zu machen, das soll in der



Fig. 3.
Vergr. 1200 ×.
Sporen gefärbt.

späteren ausführlichen Arbeit geschehen, in der ich den ganzen Entwicklungskreis des Parasiten zu schildern hoffe. Hier müssen einige Hinweise auf die Figuren genügen. Fig. 4 zeigt ein Myxosporid mit den zwei darin gebildeten Sporen in ungefärbtem Zustand.



Fig. 4. Vergr. 1200 ×. Myxosporid mit Sporen frisch.



Fig. 5. Vergr. 1200 ×. Verschiedene Amöboidstadien aus einem gefärbten Schnitt.

In Fig. 5 sind verschiedene Amöboidstadien aus einem gefärbten Schnitt abgebildet. In Fig. 5 u. 6 der Tafel sieht man sie in ihrer Lage im Gewebe. Auffällig ist die sehr variable Größe der einzelligen Formen; die Kerne erscheinen häufig als Ringe mit einer kleinen Verdickung (Siegelringformen). Häufig sieht man größere Formen mit verschiedener Zahl von Kernen; ich habe deren 50 und mehr gezählt. Ich vermute, daß solche Formen aus den kleinen Einzelligen herangewachsen sind und wieder in solche zerfallen, kann das aber nicht erweisen. Auch weiß ich noch nicht, wieviel Kerne, resp. Zellen zur Bildung einer Spore verbraucht werden. — Die Polfäden sind durch Säuren, durch Jod, Glycerin, Alkohol oder Äther nicht zum Ausspringen zu veranlassen, dagegen gelingt das leicht mit dünnen Alkalien, etwa mit Kalkwasser, das auf die Hälfte verdünnt wurde, oder mit 1 proz. Kali- oder Natronlauge. Da strecken sich die Fäden kreuzweise hervor, wie die Fig. 2 zeigt. Man sieht auf derselben eine Spore, in der erst die eine Polkapsel ihren Faden entleert hat, während die andere ihn noch, spiralig aufgewunden, enthält. Der Faden hat eine Länge von 40—50 μ; er ist schmal bandförmig und einem Baumwollfaden vergleichbar etwas gewunden. — Da Säuren den Faden nicht heraustreiben, ist es erklärlich, daß er auch im Magensaft der Forellen nicht vortritt. Wiederholt habe

ich den Versuch gemacht, ein sporenhaltiges Knorpelstückchen in Fließpapier gewickelt einer Forelle in den Magen zu schieben. Untersuchte man nach 1—2 Tagen den Inhalt des Papiers, so fand man unveränderte Sporen und solche, die mehr oder weniger verdaut waren, von denen oft nur noch ein dünner Schalenrest übrig war. Sporen mit ausgestreckten Polfäden wurden nie beobachtet. — Die Untersuchung des Entwicklungskreises der Lentospora cerebralis wird dadurch erschwert, daß man für die schalenlosen amöboiden Stadien fast ganz auf Schnitte angewiesen ist, und zwar auf solche, die nach Entkalkung des Objekts gemacht wurden. Da sie im festen Knorpel oder Knochen liegen, ist es kaum möglich, Zupfpräparate zur frischen Untersuchung herzustellen, ohne die zarten Gebilde zu zerstören. Nur durch glücklichen Zufall bekommt man hier und da ein wohlerhaltenes zu Gesicht. Ich werde diese klaffende Lücke ausfüllen können, wenn mir einmal ganz frühe Infektionsstadien vorliegen, was bisher nicht der Fall war. Glücklicherweise ist das Auffinden der fertigen Sporen bei älteren Fällen im frischen Präparat dafür um so leichter. Da man in der biologischen Versuchsstation nicht selten zwischen der Diagnose Drehkrankheit und Enteritis zu wählen hat, ist das besonders von praktischer Bedeutung. Bei manchen Darmerkrankungen führen die Forellen nämlich auch, offenbar von heftigen Schmerzen gepeinigt, wilde Bewegungen aus; sie springen aus dem Wasser oder schießen wie rasend darin umher. Wer beide Krankheiten öfters beobachtet hat, wird sie kaum miteinander verwechseln. Ein eigentliches Drehen in einer Richtung, viele Male hintereinander, kommt bei Enteritis nicht vor; die Bewegungen sind da noch heftiger, todeskampfartig. Auch dauern die Erscheinungen nie solange; selten vergehen mehr als einige Stunden bis das Ende eintritt; eine Genesung wird nie beobachtet. Da nun kein Fischmeister und kein Züchter gern zugibt, daß seine Fische Darmentzündung haben, weil das auf einen Fehler in der Behandlung hindeutet, — auf ungeeignete Fütterung oder Unreinlichkeit — so neigen sie immer dazu, krampfhafte Bewegungen für Drehkrankheit zu erklären; an deren Auftreten konnte dem Pfleger bisher keine Schuld beigemessen werden. Die Sicherstellung der Diagnose „Drehkrankheit“ kann im Zweifelfalle am toten Tier nur durch Nachweis der Lentospora-Sporen geschehen, also nur mikroskopisch. Sind äußere Deformitäten vorhanden, so untersucht man die betreffenden Skeletteile; in einem schwarzen Schwanz z. B. legt man die Wirbelsäule frei und wird dann schon unter der Lupe kleine, milchig-glasige Knötchen von Knorpel-

konsistenz finden, die man nur zu zerzupfen und zu zerdrücken braucht, um dann mit starker Vergrößerung Massen von Sporen darin zu erkennen; dasselbe gelingt mit den Kiemenbögen, deren Verdickungen oft unter der Lupe schon deutlich sichtbar sind und sich leicht isolieren lassen. Etwas weniger bequem ist die Untersuchung der früheren Krankheitsstadien, wenn die Infektion noch auf die Schädelkapsel beschränkt ist. Da nimmt man am besten ein Knorpelstückchen aus der Gehörgegend und zerzupft das in gleicher Weise, muß aber mehrere Präparate herstellen, weil die knotenförmigen Wucherungen hier nicht so leicht mit Lupenvergrößerung zu finden sind, und weil oft nur die eine Seite erkrankt ist, was sich nur unter dem Mikroskop erkennen läßt.[1]

Was die Ätiologie der Drehkrankheit betrifft, so war dieselbe bis vor kurzem noch ganz dunkel; unter den ungebildeten Züchtern bestanden recht abenteuerliche Vorstellungen darüber. So hörten wir vor kurzem von einem derselben die bestimmte Versicherung, es genüge, einen kleinen Kloß Erde von gewisser Beschaffenheit in einen Weiher zu werfen, um sämtliche Insassen desselben an Drehkrankheit eingehen zu lassen! — Da für alle gut bekannten Myxosporidien die Übertragung mit der Nahrung angenommen wird, ein anderer Infektionsmodus noch nie nachgewiesen wurde, so lag auch für die Lentospora der Verdacht am nächsten, die Infektion erfolge durch das Futter. Die Salmonidenbrut wird nun entweder mit Fleisch und Fleischpräparaten ernährt, die jedenfalls den Parasiten nicht enthalten, ebensowenig wie der zuweilen gefütterte Quark. Außerdem kommt zerkleinertes Fischfleisch zur Verwendung. Unsere minderwertigen Süßwasserfische, die in manchen Gegenden gegeben werden, sind kaum als verdächtig zu betrachten; wenn der Parasit in ihnen vorkäme, so wäre er aller Wahrscheinlichkeit nach schon früher bekannt geworden. Das berechtigtste Mißtrauen richtete sich daher von vornherein auf die Schellfischnahrung, mit der in vielen Gegenden Norddeutschlands die Salmonidenbrut vom Alter von wenigen Monaten an aufgezogen wird. In der Nähe der Nordseehäfen sind kleinere Gadiden (in Frage kommen besonders G. aeglefinus, G. morrhua, G. virens) billig zu erhalten, und bilden ein mit Recht als nahrhaft und leicht verdaulich geschätztes Fischfutter. Es wurden daher zunächst Schädel der erwähnten Gadiden-Spezies einer

[1] Anmerkung bei der Korrektur: Eine soeben begonnene Untersuchung zeigt, daß die frühen Krankheitsstadien keine Sporen enthalten: hier wird die Diagnose also schwieriger. — Näheres darüber folgt später.

Prüfung unterzogen und zwar mit frappierendem Erfolg. Die große Mehrzahl der untersuchten Schädel erwies sich als infiziert mit Myxosporidien, teils mit unserer Lentospora, teils mit einem größeren Myxobolus. Genauere Nachfragen ergaben dann, daß die echte Drehkrankheit — die als solche durch mikroskopische Untersuchung festgestellt werden konnte — immer nur in Züchtereien auftrat, in denen mit Schellfisch gearbeitet wird. Wie gesagt, das Leiden ist besonders in Norddeutschland verbreitet; vor kurzem erhielten wir aber auch von einem süddeutschen Fall Kenntnis, und die Erkundigung ergab, daß in der betreffenden Anstalt auch Seefische gegeben waren, als anderes Futter knapp wurde. Ich glaube es unter diesen Umständen für mehr als wahrscheinlich erklären zu dürfen, daß der Parasit aus dem Seefischfutter auf unsere Salmoniden übergeht. Der wichtigste, überzeugendste Beweis steht freilich noch aus; bei künstlichen Übertragungsversuchen durch Fütterung mit Sporen ist bis jetzt noch kein Fall von Drehkrankheit erzeugt worden; aber die Versuche, die erst vor einigen Wochen begonnen wurden, sind noch im Gange; sie können noch vielfach modifiziert werden, und ich zweifle nicht, daß der Erfolg schließlich positiv sein wird. — Für die Praxis konnte immerhin schon der Schluß gezogen werden, daß Seefischnahrung, so gesund sie im übrigen ist, die Gefahr der Drehinfektion mit sich bringt, also nicht roh gereicht werden darf. Gekochtes Fischfleisch dagegen kann als unschädlich angesehen und unbedenklich verfüttert werden.

Aus der Spezialisierung unseres Parasiten, der auf Knorpel und Perichondrium angewiesen ist, erklärt sich die eingangs erwähnte Tatsache, daß er nur bei jungen Fischen eine Rolle spielt, deren Schädel noch größtenteils knorpelig ist. Nach dem Ende des ersten Jahres, wenn die Verknöcherung des Salmonidenschädels vorgerückt ist, findet er keine Angriffspunkte mehr; für ältere Fische ist er unschädlich. Anders verhält sich das mit den Gadiden, deren Schädel überhaupt nur zum Teil verknöchert; dort kommt der Parasit auch beim alten Tier vor; ob er eine verderbliche Wirkung hervorruft, ist noch nicht bekannt; die Krankheiten der Seefische sind ja noch weniger erforscht wie die unserer Süßwasserbewohner. Eine sehr weitgehende Zerstörung des Korpels habe ich bei einigen Schellfischen gesehen; bei ihnen war wohl die Hälfte der Masse des Kopfskelets in der Gehörregion breiig zerfallen; aber ob die Tiere durch diese Zerstörung ernstlich Schaden gelitten hatten, vermöchte ich nicht zu entscheiden. Fische vertragen in der Richtung ja unglaublich viel. Ich vermute auch für die von mir bis jetzt allein studierte

langsam verlaufende Krankheitsform, daß die drehkranken Regenbogenforellen, wenn sie eingehen, nicht dem direkten Einfluß der Lentosporainfektion zum Opfer fallen, sondern daß sie durch deren indirekte Wirkung zu Grunde gehen; meist wohl an Entkräftung infolge Behinderung der Nahrungsaufnahme.

Nehmen wir an, daß der Parasit durch den Verdauungstraktus eindringt, so ist eine weitere Frage, auf welchem Wege er seinen definitiven Wohnsitz erreicht. Am sichersten ließe sie sich natürlich entscheiden, wenn ganz frühe Infektionsstadien vorlägen, wenn experimentelle Übertragung gelungen wäre. Obwohl das leider noch nicht der Fall ist, so genügen doch die anatomischen Befunde, um recht sichere Schlüsse über den Verbreitungsmodus des Schmarotzers in seinem Wirt darauf zu bauen. Man kann mit größter Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Verbreitung auf dem Lymphwege geschieht; dafür spricht die Lokalisation im Kopf (und den angrenzenden Skeletteilen) und im Schwanz, sehr häufig auch in der Flossenbasis und in der Clavicula, während die Rumpfteile nicht infiziert werden. In diesen Gegenden, im Kopf, im Schwanz und an der Basis der Flossen finden sich bekanntlich große Lyphsinus, mit welchen die Lymphgefäße des ganzen Körpers kommunizieren, so daß eine Einschleppung pathogener Keime vom Darm aus zum Kopf und Schwanz sowie zu den Gliedmaßen durch das Lymphsystem besonders leicht möglich ist.

Mir scheint die Annahme sehr naheliegend, daß die Infektion folgendermaßen vor sich geht: Die Sporen gelangen beim Fressen in den Magen; sie passieren ihn unter normalen Verhältnissen unverändert, weil der saure Magensaft sie nicht zum Aufspringen bringt. Dies wird erst im Darm vor sich gehen; in welcher Gegend kann ich noch nicht sagen. Die Sporen heften sich vermutlich mit ihren Polkapselfäden in der Wand fest und entlassen den Sporozoiten; derselbe dringt durch die Darmwand in die Lymphbahn, wird durch kleinere Lymphgefäße in die Sinus des Kopfes und des Schwanzes befördert. Die dünnen Sinuswände kann er leicht passieren und findet sich dann in unmittelbarer Nähe des Knorpels am Gehörorgan, resp. des Schwanzwirbelknorpels, in denen er seinen Sitz aufschlägt, sich massenhaft vermehrt und von wo aus er — wenn auch langsam — in die Umgebung vordringt, sie zerstört und zur Entzündung und entzündlichen Wucherung bringt.

Ich vermute, daß bei dem zuweilen berichteten stürmischen Krankheitsverlauf, wo das Sterben 3—4 Wochen nach den ersten Seefischfütterungen beginnt, die Todesursache in Veränderungen im

Darmsystem oder in den Kreislaufsorganen liegen wird, erwähnte aber bereits, daß derartige Fälle noch nicht zur Beobachtung kamen.

Beim langsamen Verlauf, der hier geschildert wird, verhält es sich anders. Die Hauptuntersuchungsserie von Fischchen, die ich im Herbst 1903 erhielt — im Alter von 6—7 Monaten — war schon schwer erkrankt, ließ aber bei äußerer Betrachtung noch nichts von Deformitäten erkennen; die traten erst nach Verlauf mehrerer Monate auf. Der Beginn der Krankheit wird also noch weiter zurückliegen, er fällt vermutlich in die Monate Juni-Juli, wenn die Regenbogenforellenbrut ca. 2 Monate alt ist. Die ersten Stadien' machen sich nicht bemerkbar; erst wenn die Gegend des Gehörorgans affiziert wird, erkennt man die Krankheit.

Ich gehe nun zum mikroskopischen Befund über: Die Fig. 3 Taf. V, die einen Querschnitt durch den Kopf einer 8 cm langen drehkranken Regenbogenforelle darstellt, zeigt am übersichtlichsten die Verbreitung des Parasiten, aus welcher auch die Krankheitssymptome sich erklären. Bei diesem Exemplar waren fast alle Knorpel, soweit sie noch nicht verknöchert sind, erkrankt. Der Schnitt ist etwa 3 mm hinter der Augenhöhle geführt; er trifft die Medulla oblongata (*mo*), die Fossa rhomboidalis (*fr*) und das darüber gelagerte Kleinhirn (*kh*); oben die Parietalia, unten den hinteren Teil des Occipitale (*occ*), wo in seiner Konkavität das Vorderende der Chorda liegt (*ch*). Die große Knorpelmasse rechts ist ein Teil des Primordialkraniums; links ist davon nur das obere Stück erhalten (*cr*). Die Parasiten im Parietale sind mit (*par*) bezeichnet.

Auf der rechten Seite sieht man 4 Schnitte der Bogengänge (*bg*), auf der linken Seite dagegen ist nur einer davon zu sehen, der einem schräg getroffenen, vertikalen Gang entspricht, während der übrige Raum, der dem Gehörorgan zukommt, von massigen Granulationen (*gr*) erfüllt ist. Diese Granulationen werden von der Lentospora cerebralis veranlaßt. In fast allen Fällen breiten sie sich wie in dem hier abgebildeten am üppigsten im Gehörorgan aus und können dasselbe mehr oder weniger vollständig ausfüllen. Die Erkrankung des Gehörorgans und speziell der halbzirkelförmigen Kanäle liefert eine höchst plausible Erklärung für die Gleichgewichtsstörungen, die sonst doch nur durch eine zentrale Erkrankung hervorgerufen werden könnten, für deren Annahme jeder Anhalt fehlt, denn Läsionen des Gehirns sind nirgends zu erkennen, auch ist nirgends zu sehen, daß die Wucherungen einen Druck darauf ausübten. — Ja, man kann die Sache auch umkehren und in dem Symptom der Krankheit einen neuen willkommenen Beweis für die

statische Funktion des Gehörorgans erblicken. — Wahrscheinlich ist das Gleichgewichtsgefühl besonders beeinträchtigt, solange Veränderungen stattfinden, solange die Krankheit fortschreitet. Während dieser Zeit wird die normale Lage schwer wiedergefnnden, wenn sie einmal verlassen war, während sie, wenn der Fisch ganz ruhig blieb, tagelang nngestört beibehalten werden kann. Es ist nicht nötig, daß bei drehkranken Fischen das Organ immer zum großen Teil zerstört sei, wie im abgebildeten Fall; schon eine leichtere Einschränkung und Pressung durch eine kompakte Zellwucherung würde eine Beeinträchtigung des Gleichgewichtsgefühls verständlich erscheinen lassen. — Erfährt dann der Krankheitsprozeß einen wenn auch nur lokalen Stillstand, so kann sich das Tier dem veränderten Zustand wieder anpassen; nach einiger Zeit hat es gelernt, sich wieder ebenso sicher und zweckentsprechend zu bewegen wie der gesunde Fisch; das Taumeln hört auf; das Hauptkrankheitssymptom ist oft nicht während des ganzen Verlaufs vorhanden; darum kann die Krankheit doch an einer anderen Stelle weiter greifen und auch über kurz oder lang zum Tode führen, ohne daß die wilden Drehbewegungen von neuem aufzutreten brauchten. In der Fig. 3 unserer Tafel sieht man den Beginn einer Zellwucherung (*gr*) auch anf der rechten Seite des Schnittes, aber auf dieser Seite sind die Bogengänge noch intakt; man sieht auch, daß der Knorpel des Occipitale erkrankt ist, und daß die Lamellen des Parietale durch Wucherung auseinandergedrängt werden; bei der geringen Vergrößerung der Figur ist von dem Parasiten selbst nichts zn erkennen. Derselbe war bei diesem Exemplar auch in allen benachbarten Skeletteilen des Kopfes zn finden, außerdem in den Kiemenbögen, den Opercula, den ersten Wirbeln, im Schultergürtel und in den basalen Flossenknorpeln. Dazu waren die letzten Schwanzwirbel befallen. Wie bei allen untersuchten Tieren blieben dagegen die Knorpelteile des Rumpfes unberührt, was ich nochmals hervorhebe, weil sich darauf meine Vermutung bezüglich des Verbreitungsmodus gründet.

Betrachten wir eine der erkrankten Partien bei starker Vergrößerung, so finden wir den Ban eines typischen infektiösen Granuloms: einzelne Stellen erinnern lebhaft an Tuberkelknoten. Große, ziemlich unregelmäßig gestaltete Zellen, die ohne weiteres als epitheloide Zellen angesprochen werden können, beherrschen das Feld; zwischen ihnen findet man in sehr wechselnder Menge eingewanderte Leuko- und Lymphocyten. So ist das Bild in Fig. 2 Taf. V. Gefäße spielen dabei keine Rolle; meist trifft man nur vereinzelte

Erythrocyten, zu umfangreichen Blutungen kommt es nie. Die Abbildung stellt die Grenze des infizierten Knorpels des Primordialkraniums aus der linken Hälfte des Schnittes Fig. 3 dar. Zwei abgetrennte Knorpelstückchen, die der Auflösung entgegengehen, liegen links in die Granulationsmasse eingeschlossen. Nur bei genauer Durchmusterung erkennt man ein paar Amöboidformen unseres Parasiten. Riesenzellen (*rz*) sind nicht selten, die Kerne können in ihnen peripher gelagert erscheinen wie in der Zeichnung Fig. 5 Taf. V oder auch zentral (in letzterem Falle handelt es sich vielleicht um Flächenschnitte) wie in Fig. 1 der Tafel. Zuweilen schließen sie Parasiten ein, — in der Riesenzelle der Fig. 5 sieht man Sporen und Amöboidformen — das ist aber durchaus nicht immer der Fall. — Dieser Aufbau, der den Vergleich mit anderen Infektionsgranulomen (Tuberkulose, Syphilis, Aktinomykose) geradezu aufdrängt, besonders wo an Stellen, wie den bisher citierten, die Parasiten sich im Hintergrund halten, erweckte natürlich den Verdacht, es könne sich um eine Mischinfektion handeln; die Wucherungen seien vielleicht auf Bakterien zurückzuführen, mit denen der Myxobolid nur vorgesellschaftet sei. Zahlreiche darauf gerichtete Färbungen haben aber immer die Abwesenheit aller Bakterien gezeigt; selbst in den Stellen, in denen ein nekrotischer Zerfall zu erkennen ist oder in denen eine — immer nur sehr geringe — Menge von Exsudat sich gebildet hat, fehlen Bakterien durchaus.

Es gibt aber auch viele Partien, in denen der ursächliche Zusammenhang der Parasiten und der Granulationen auf den ersten Blick einleuchtet. Eine solche ist in Fig. 1 Taf. V dargestellt, die zum großen Teil von Parasiten erfüllt ist; in der oberen Hälfte des Bildes überwiegen die Amöboidformen, in der unteren die Sporen, unten ist die Infektion also schon älter; dazwischen liegt eine Zone epitheloider Zellen von bindegewebiger Abstammung; zwischen ihnen eine schöne große Riesenzelle.

Völlig beweisend ist auch das bei geringerer (80facher) Vergrößerung gezeichnete Granulom in Fig. 4 Taf. V. Der Schnitt war mit Anilinwasser-Saffranin gefärbt worden, das zwar keine sehr zarte Färbung gibt, aber die Sporen ungemein scharf ziegelrot hervortreten läßt, während die Gewebszellkerne einen milderen etwas bläulicheren Ton annehmen. (Diese Färbung wurde immer benutzt, wenn es sich darum handelte, einen Überblick zu gewinnen, ob und wo Sporen vorhanden seien.) Das Zentrum des Knotens ist nekrotisiert, es enthält in der Mitte Haufen von Sporen, einige liegen auch peripher; die hellere Zone, welche darauf folgt, ent-

spricht den schwer färbbaren Amöboidformen. Das Ganze ist eingehüllt in einen Mantel von Granulationszellen; links unten eine Riesenzelle mit peripher gelegenen Kernen. Ebenso wie bei Tuberkulomen sind die Granulationszellen oft radiär zu dem nekrotischen Zentrum angeordnet, ebenso wie dort finden im nekrotischen Herd Verkalkungen statt; sie sind in den bisher untersuchten Fällen erst in den Anfangsstadien, was, da die Krankheit noch in voller Intensität besteht, ja auch zu erwarten ist. — Ebenso wie bei den anderen Infektionsgranulomen ist das umgebende Bindegewebe, auch wo es nicht in Wucherung geraten ist, sehr reichlich mit Leukocyten durchsetzt. — Auch die Ausbreitung geschieht analog durch vorwachsende Lappen, die später verschmelzen.

Bilder wie dieses, die überaus häufig sind, schließen jeden Zweifel daran aus, daß unser Parasit hier die Hauptrolle spielt; hier braucht man nicht Bakterien zu vermuten, um die entzündliche Wucherung zu erklären, obwohl solche Bilder eine schlagende Übereinstimmung mit den Schnitten von Tuberkeln zeigen. Ich erinnere zum Vergleich an die Fig. 70 Taf. XVIII und 223 u. 224 Taf. XXXIII in Schmaus, Grundriß der pathol. Anatomie 7. Aufl.

Wo die Parasiten auftreten, geraten die Zellen der bindegewebigen Hülle des Skelets in Wucherung. Offenbar verändert das Perichondrium resp. Periost — man kann beide Namen beliebig brauchen, da es sich um junge Tiere handelt, deren Skelet eben aus dem knorpeligen in das knöcherne Stadium übergeht — unter dem Einfluß des Parasiten, wohl durch ein von ihm abgeschiedenes Toxin, seinen Charakter; aus den typischen Bindegewebszellen von langgestreckter Gestalt, mit wenig Protoplasma und spindeligem Kern, die in dünner Lage den Knochen umgeben, werden lebhaft wuchernde, epitheloide Zellen mit großem, ellipsoidischem bis kugeligem Kern und reichlichem Protoplasma; dieselben liegen oft gruppenweise zusammen und werden von bindegewebigen Zügen alveolenartig zusammengefaßt. Dies zeigt sich am besten in Textfig. 6; sie stellt einen Schnitt durch drei verknöcherte Knorpel der Wurzel der Vorderflosse dar; der Knorpel rechts ist noch völlig gesund, er ist rings von einem Knochenring umgeben und dieser wird von einem normalen Periost eingehüllt; auch beim mittleren Knorpel ist die bindegewebige Hülle noch unverändert. Vollständig umgewandelt ist sie dagegen im Bereiche des linken Knorpels, — es war der proximale. Hier ist das Periost in entzündliche Wucherung geraten, es ist zu einem aus epitheloiden Zellen gebildeten Granulom geworden. Einige Parasiten sieht man mit starken Systemen in diesem

Granulom, die schwache Vergrößerung der Zeichnung läßt sie nicht erkennen. Im Knorpel, resp. innerhalb des Knochenringes dagegen ist er in solchen Mengen vorhanden, daß er sich auch bei dieser Vergrößerung bemerklich macht. Der linke Knochenring — daß derselbe feiner erscheint als die anderen, hängt mit der Lage

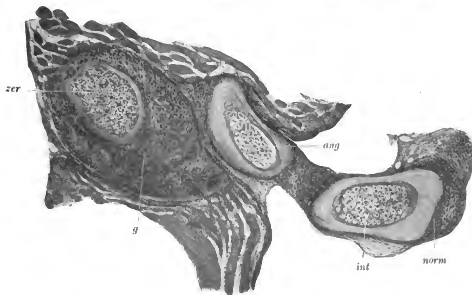


Fig. 6. Vergr. 100 ×.
zer = zerstörter Knorpel; *ang* = angegriffener Knorpel; *int* = intakter Knorpel; *norm* = normales Periost; *gr* = granulierendes Periost.

des Schnittes zusammen — ist ganz und gar mit sporenbildenden Parasiten angefüllt; dieselben haben die Knorpelsubsanz vollständig aufgezehrt. Bei dem mittleren Knorpel ist die Zerstörung noch im Gange; oben ist noch ein Rest übrig; die größere Hälfte unten dagegen ist fort, an ihrer Stelle macht sich die sporulierende Lentospora breit. Ob sie vom Periost aus hineingelangte, von einer noch nicht verknöcherten Stelle aus, oder direkt durch ein Lymphgefäß, läßt sich nicht sagen. Beides ist möglich; meist scheint die Infektion von außen her zu erfolgen; so war es in Fig. 1 der Tafel, wo die Parasiten in festgeschlossener Phalanx gegen den Knorpel vorrücken und sich in seine Höhlen hineinzwängen und von dort aus das Gewebe erweichen und vernichten.

Wirklich angegriffen wird von dem Parasiten überhaupt nur die Substanz des Knorpels. Ihrer Zerstörung geht oft schleimige Umwandlung voraus. Man findet die Lentospora allerdings sehr vielfach in den Knochenhöhlen und Kanälen, sie drängt sich gern in Spalten zwischen Knochenlamellen ein und lockert auf diese Art das Gefüge, aber immer sind das Stellen, die früher von Knorpel eingenommen wurden. So hat sie in Fig. 3 der Tafel sich in die Parietalia vorgeschoben (*par*), und so füllt sie in Fig. 7 der Tafel eine große Knochenhöhle vollständig aus (*par*). Diese Figur stellt einen Schnitt durch den Knochen eines infizierten Kiemenbogens dar. Der Knochen enthält mehrere große, von locker maschigem Fettmark erfüllte Hohlräume (*h*); der größte derselben einen dichten Brei von Parasiten, die hier zum überwiegenden Teil schon Sporen gebildet haben. Von einem wirklichen Schwinden der Knochensubstanz ist weder an diesen noch an einer der anderen zahlreichen untersuchten Stellen die Rede. Überall, auch unmittelbar neben den Parasitenanhäufungen und den von ihnen verursachten Granulationen erscheint der Kontur der Knochenschnitte glatt und scharf, niemals angefressen. Wo es einmal ein anderes Aussehen hatte, stellte sich regelmäßig heraus, daß die angegriffene Partie noch knorpelig gewesen war; nur an der Grenze der Verknöcherungszone zeigten sich verdächtige Bilder.

Die Lentospora ist ans Skeletsystem streng gefesselt; wenn sie sich davon entfernt, so geschieht es nur durch Vermittlung des wuchernden Perichondriums, das sie bei seinem Vordringen gegen andere Organe passiv mitschleppt. Ein eigentliches Eindringen, ein infiltrierendes Wachstum in fremde Gewebe kommt auch bei den granulierenden Bindegewebszellen nicht vor, es ist immer nur eine reine expansive Ausbreitung. Das wird durch Fig. 7 illustriert. Sie stellt einen Schnitt durch die vordere Rumpfregion dar, ein Wirbel ist getroffen. Außen sollten der Chorda vier Knorpelkerne anliegen, die an ihrer Peripherie bereits verknöchert sind; von diesen sind aber nur drei erhalten. Der vierte, rechts unten, ist von dem Parasiten vollständig aufgezehrt; ein scharf begrenztes Granulom hat sich vom Perichondrium aus gebildet, das nach der Leibeshöhle zu wächst und, geschwulstähnlich wuchernd, die Niere verdrängt, ohne aber ihr Gewebe im mindesten anzugreifen.

Ein Fall wie dieser ist übrigens eine seltene Ausnahme; hier schießt die Wucherung über ihr Ziel hinaus. Sonst hat man durchgehends den Eindruck, daß sie der Ausdruck einer Heilungstendenz sei; daß die Granulationen dem Parasiten nachfolgten, um ihn zu

umschließen, von der Umgebung, von der Nahrungszufuhr abzusperren und ihn dadurch am Weiterwachstum zu hindern und unschädlich zu machen. Wie weit ihnen das gelingt und wie rasch sie damit zustande kommen, wird von der Beschaffenheit der angegriffenen Stelle abhängen. Wo viel gut ernährtes, saftreiches Bindegewebe den erkrankten Skeletteil umgibt, wird die Zellbildung schnell von

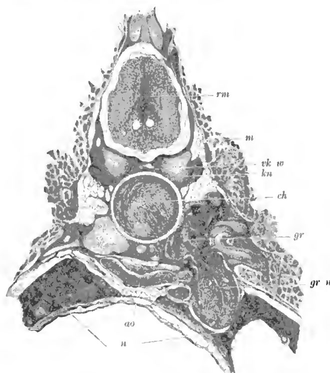


Fig. 7. Vergr. 40×.
ao = Aorta; *ch* = Chorda; *gr* = Granulom; *gr n* = Granulom, in die Niere vorwachsend; *kn* = Knorpel des Wirbels; *m* = Muskulatur; *n* = Niere; *rm* = Rückenmark; *vk w* = verknöchernder Wirbel.

statten gehen, die Parasiten werden bald eingeschlossen und ausgehungert sein. An anderen Stellen mit spärlichem, alterndem, wenig regenerationsfähigem Bindegewebe können sie länger ungehindert ihr Wesen treiben. In Fig. 7 Taf. V z. B. ist ihnen nichts in den Weg gelegt worden; die Knochenhöhle enthielt keine reagierende

Bindegewebsauskleidung. Wo man an ähnlicher Stelle Granulationen findet, läßt sich immer verfolgen, daß sie durch eine Öffnung von außen hineinwucherten. — Am lebhaftesten ist der Kampf in Fig. 1 Taf. V, an dieser Stelle sind die Parasiten noch entschieden im Übergewicht. Im Granulom Fig. 4 der Tafel ist ihre Lage bereits eine hoffnungslos bedrängte und in Fig. 2 Taf. V haben die Körperzellen einen vollständigen Sieg errungen.

Was weiter aus den Wucherungen wird, ihr endgültiges Schicksal, nachdem sie ihre Aufgabe erfüllt haben, nach der Vernichtung der Parasiten, konnte ich noch nicht weiter verfolgen, weil die Heilung in allen meinen Exemplaren noch nicht genügend vorgeschritten ist. Auch das soll in der späteren Arbeit erst untersucht werden. Vor allem wird es da interessant sein, festzustellen, ob jemals beim geheilten Fisch, der sein Gleichgewichtsgefühl vollständig wieder gewonnen hat, sich weitgehende Zerstörung des Gehörorgans konstatieren läßt, ob da also eine Kompensierung durch andere Organe eintritt.

Es gibt wohl eine große Zahl von Sporozoen, die eben so streng spezialisiert sind wie das hier beschriebene, die nur in einem Gewebe oder in einer Körperhöhle zu finden sind. Die wichtigsten pathogenen bisher bekannten Myxosporidien sind aber in der Wahl ihres Wohnsitzes weniger exklusiv wie die Lentospora, sie finden sich in zahlreichen Gewebsarten. So schmarotzt der Myxobolus cyprini, der Parasit der Pockenkrankheit des Karpfens, außer in der Niere noch in Leber und Milz; Myxobolus Pfeifferi, der die Beulenkrankheit der Barbe erregt und hauptsächlich die Muskulatur bewohnt, kommt außerdem in Niere, Milz und Leber, in der Darmwand, im Herzbeutel, im Ovar, kurz fast im ganzen Körper vor.

Diese beiden Myxoboliden sind die einzigen früher bekannten, welche bei den Fischen schwere epidemische Erkrankungen veranlassen und dadurch eine große praktische Bedeutung besitzen. Die Veränderungen, die sie hervorrufen, sind aber ganz anderer Art. Ich sehe hier von den Hautwucherungen bei der Pockenkrankheit ab, deren Zusammenhang mit der Niereninfektion sich bis jetzt nur hypothetisch erklären läßt. An seinem Wohnsitz, in den inneren Organen, ruft der Myxobolus cyprini, wenn er in geringer Zahl auftritt, gar keine Reaktion hervor; erscheint er in großen Mengen, so kann es wohl heftige Entzündungen geben — Leuko- und Lymphocyten-Invasionen, Hämorrhagien, Nekrose und Abstoßung von Epithelien der Harnkanäle und übereilten, unregelmäßigen Ersatz derselben — aber niemals entstehen Granulome. Ebensowenig ist das

bei der Beulenkrankheit der Barbe der Fall; die Beulen, die in der Muskulatur sitzen und die Größe eines Hühnereis erreichen können, bestehen ganz aus Parasitenansammlungen; dieselben üben wohl einen entzündlichen Reiz auf das umgebende Gewebe; Leukocyten sammeln sich an, es besteht die Tendenz zu einer bindegewebigen Abkapslung, aber Gewebswucherungen in größerem Umfang finden nicht statt.

Die vielen übrigen Sporozoeninfektionen der Fische sind leider pathologisch-histologisch noch kaum eingehend untersucht. Die Toleranz der niederen Tiere gegen Parasiten ist freilich eine außerordentliche; — die Fische besonders führen oft kolossale Mengen von Sporozoen, ohne in ihrem Benehmen erkennen zu lassen, daß sie darunter leiden, was dafür spricht, daß auch ihre Gewebe nicht stark reagieren; doch mehren sich die Fälle, in denen intensive Schädigung nachweisbar ist, schnell, seit man darauf achtet. Entzündungen werden sie sicher vielfach verursachen, es wäre nicht erstaunlich, wenn auch einmal entzündliche Wucherungen, wie die hier beschriebene, sich nachweisen ließen.

Bis jetzt ist der vorliegende Fall der einzige bekannte von Granulombildung durch Protozoeninfektion. Die Bildungen schließen sich eng den Tuberkulomen, Syphilomen und Aktinomycomen an. Wie diese unterscheiden sie sich deutlich und scharf von den Geschwülsten. Bei der Suche nach einem Erreger der Geschwülste hat man oft genug das Augenmerk auf die Sporozoen gerichtet, zum Teil wohl, weil ihre Effekte wenig bekannt sind und für zahlreiche Möglichkeiten Platz blieb. Dem gegenüber ist nachdrücklich zu betonen, daß die sicher bekannten pathologischen Effekte der Sporozoen immer nur Entzündungen sind; wenn es hoch kommt, entstehen Gebilde, die bei oberflächlicher Betrachtung einige Geschwulstähnlichkeit haben mögen, sich aber bei genauer Untersuchung als Infektionsgranulome erweisen.

Tafelerklärung.

Tafel V.

Fig. 1. Schnitt durch einen in Auflösung begriffenen Knorpel, links ein Rest des Knorpels; oben eine Ansammlung von Parasiten, größtenteils Amöboidformen, unten überwiegen die Sporen, dazwischen Granulationen (*gr*), rechts eine Riesenzelle (*rz*). — Konservierung: Formol-Sublimat-Eisessig nach Oppel; Entkalkung in 3proz. HNO_3 in 70proz. Alkohol; Färbung: Hämalaun-Eosin. Vergr. 350.

Fig. 2. Schnitt durch einen in Auflösung begriffenen Knorpel. Von Parasiten ist wenig zu sehen, die Granulationen beherrschen das Feld, sie umschließen zwei abgesprengte Knorpelstückchen. — Technik wie oben. Vergr. 350.

Fig. 3. Schnitt durch den oberen Teil des Kopfes, Occipitale (*occ*) mit dem Vorderende der Chorda (*ch*) mit Scheide (*ch sch*). Medulla oblongata (*mo*) und Fossa rhomboidalis (*fr*), Kleinhirn (*kh*); darüber die durch Parasiten (*par*) auseinandergedrängten Lamellen des Parietale. Rechts und links Knorpel des Primordialkraniums; links der Knorpel größtenteils zerstört. Das Gehörorgan (*bg*), das rechts noch intakt ist, zum Teil vernichtet. Auch der Knorpel des Occipitale ist angefressen. Beginn von Granulombildung auch rechts, zwischen Medulla und Bogengängen. — Technik wie oben. Vergr. 15.

Fig. 4. Schnitt durch ein Granulom. Nekrotisiertes Zentrum; Sporen (*sp*) hauptsächlich in der Mitte. — Links unten eine Riesenzelle (*rz*). — Färbung: Anilinwasser-Saffranin. Vergr. 80.

Fig. 5. Detail aus einem Granulom, Riesenzelle (*rz*) mit peripheren Kernen, Parasiten (*par*) enthaltend, Sporen (*sp*). Vergr. 650.

Fig. 6. Detail aus einem Granulom. Nekrotische Partie. Vielkernige Amöboidformen im Gewebe (*par*), links eine Spore (*sp*). Vergr. 650.

Fig. 7. Schnitt durch den Knochen eines infizierten Kiemenbogens. Die große Knochenhöhle ist ganz von Lentospora-Sporen (*par*) erfüllt; keine Granulationen. Die übrigen Knochenhöhlen (*h*) enthalten Fettmark. Vergr. 180.

Die mikroskopischen Zeichnungen sind von Herrn K. Dirr, München, hergestellt.

(Aus dem Zoologischen Institut in Marburg.)

Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährböden.

Von

Erich Vahlkampf (Hamburg).

(Hierzu Tafel VI.)

Inhalt.

I. Einleitung.

Im Laufe der letzten Jahre sind einige Arbeiten erschienen, welche eine eigenartige an *Myxomyceten* erinnernde Fortpflanzungsart bei *Amöben* behandeln, nämlich den Zerfall der Cysten in Teilstücke. Die einzelnen Teilstücke bilden bei *Paramoeba eilhardi* nach F. Schaudinn (29) eine Flagellatengeneration, welche durch Teilung in Amöben übergeht, während bei *Amoeba proteus* nach Scheel (33) und bei *Entamoeba coli* Loesch nach Schaudinn (31) sich die Sprößlinge ohne Schwärmerbildung direkt wieder zu Amöben entwickeln. Auch Zaubitzer (37) glaubt eine derartige multiple Teilung bei *Strohamöben* beobachtet zu haben, er läßt es jedoch unentschieden, ob die durch „Sporulation" hervorgegangenen Teilstücke direkt in Amöben übergehen oder zunächst eine Flagellatengeneration bilden.

Zaubitzer (37) hat bei seinen Untersuchungen als Arzt das größte Gewicht auf die Züchtungsversuche seiner Amöbe gelegt und zu diesem Zweck eine Anzahl bis jetzt zur Amöbenzüchtung noch nicht benutzter Nährböden verwendet. Er hat namentlich den Prozentgehalt der Kulturböden an künstlichen Eiweißkörpern festgestellt, bei welchem die Amöbenentwicklung die kräftigste war, und durch Versuche die Unmöglichkeit, Amöben in Reinkultur zu züchten, nach dem Beispiele von Frosch (13) und Tsujitani (35) erwiesen.

Wie aus den Beschreibungen und Abbildungen Dujardin's (10), Auerbach's (1) u. a. hervorgeht, ist seine *Strohamöbe* der *Amoeba limax* Duj. identisch. Auch die Züchtungen dieser Amöbe sind nicht neu. In der später angeführten, hierauf bezüglichen Literatur ist *Amoeba limax* ebenfalls unter dem Namen *Strohamöbe* erwähnt, so daß in der Züchtung an und für sich keine Verdienste zu erblicken sind.

Ich habe trotzdem diese Amöbe auf künstlichen Nährböden gezüchtet, weil ich auf diesem Wege ein reichhaltiges Material zur Untersuchung der Fortpflanzung zu gewinnen hoffte. Es galt dann weiter, die interessanten Ergebnisse, zu welchen Zaubitzer (37) gelangt zu sein glaubte, vom zoologischen Standpunkt aus zu bestätigen und möglicherweise weiter auszubauen.

Bei dem Studium der älteren Arbeiten über Amöbenzüchtungen und bei meinen eigenen Versuchen habe ich dann über den Einfluß der Nährböden auf die Amöbenentwicklung einige Beobachtungen gemacht, die, wie ich glaube, nicht ganz ohne Wert sind. Ich versuchte daher, meine Untersuchungen in dieser Richtung zu vervoll-

ständigen nnd an der Hand der Resultate einige allgemeingültige auf die Amöbenzüchtung bezügliche Fragen zu beantworten.

An dieser Stelle möchte ich nicht versänmen, Herrn Professor Dr. E. Korschelt für die Anregnng zu dieser Arbeit und für seine Unterstützung während derselben meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Ich bin ferner Herrn Prof. Dr Arthur Meyer, welcher mir in liebenswürdiger Weise seine Bibliothek zur Verfügung stellte, zu Dank verpflichtet. Auch Herrn Dr. C. Tönniges möchte ich hier nochmals für seine freundlichen Ratschläge danken.

II. Untersuchungstechnik.

Bevor ich *A. l.* in reichlicher Menge auf künstlichen Nährböden züchtete, entnahm ich mein Untersuchungsmaterial der Kahmhaut, welche sich innerhalb einiger Tage an der Oberfläche eines Strohinfuses bildet. Die Untersuchung der aus dieser erhaltenen Amöben hielt ich durchaus für notwendig, weil sie im Strohinfus unter natürlichen Verhältnissen leben und eine Beurteilung der Lebenserscheinungen solcher Amöben, welche sich auf künstlichen Nährböden entwickelt haben, nur nach genauer Kenntnis der normalen möglich ist.

Zur Herstellung eines Strohinfuses wnrde häckselartig zerschnittenes Stroh und Leitungswasser verwandt. Fluß- und Sumpfwasser eignen sich nicht, weil sie häufig durch ihren Gehalt an anderen Amöben zur Verunreinigung der Kulturen beitragen. Die Bildung der Kahmhaut erfordert eine gewisse Zeit, welche namentlich von der Temperatur abhängig ist; im Winter entsteht sie im Kalten nur schlecht. Faules Stroh, auch wenn es wieder getrocknet wnrde, ist nicht zum Ansetzen des Infuses geeignet, weil es durch den Gehalt an Fäulnisbakterien verdorben wird, so daß sich nnr wenig Protozoen darin entwickeln. Auch ist fehlerfreies Stroh nicht immer geeignet, denn in manchen Fällen blieb das Infus von Amöben gänzlich frei, obgleich die neben ihnen stets vorhandenen anderen Protozoen wie gewöhnlich vertreten waren. Offenbar liegt dies an einem geringen Gehalt an Amöbencysten, der wohl mit der Herkunft des Strohs zusammenhängt. Im übrigen ist jede Strohart zu verwenden. Heuinfus habe ich nur einmal angesetzt, weil sich in der Kahmhaut dieser Aufgüsse zu viele andere Organismen entwickeln, welche eine starke Vermehrung der Amöben nicht zulassen.

An der Oberfläche solcher Aufgüsse bildet sich zunächst eine dünne aus Bakterien bestehende unzusammenhängende Schicht, welche sich bald durch das Auftreten von Pilzhyphen verdickt und eine filzige Form annimmt. Gleichzeitig entwickeln sich allmählich an Menge immer mehr zunehmend eine Anzahl verschiedener Protozoen. Besonders vertreten sind *Colpidium colpoda*, *Paramaecium*, *Oxytricha*, *Stylonychia*, *Euglena*, *Rotatorien* und *Monasarten*. Amöben habe ich frühestens am dritten Tage beobachtet. Ihr größter Feind ist *Colpidium*, welches sowohl die Amöben als auch ihre Cysten als Nahrung aufnimmt und dessen Körper oft dicht mit ihnen angefüllt ist. Die aufgenommenen Amöben sind stets zur Kugelform zusammengezogen. Eine stärkere Amöbenvermehrung wird häufig durch zu zahlreiches Auftreten derartiger Infusorien verhindert.

In einem Strohinfus tritt *A. l.*, wie erwähnt, nicht an einem bestimmten Tage auf, so daß die Kahmhaut täglich untersucht werden muß. Schabt man im Sommer etwa vom dritten Tage an ein Strohstückchen aus der Kahmhaut auf dem Objektträger ab, so wird man schon in den meisten Fällen Amöben finden. Da die Cysten dem Stroh anhaften, entwickeln sich hier die Amöben zuerst, steigen dann zur Oberfläche auf und verbreiten sich in der Kahmhaut. Dies Aufsteigen der Amöben ist wohl durch ein starkes Sauerstoffbedürfnis und durch Trophotropismus zu erklären.

Zur Konservierung des Materials gibt Zaubitzer (37) eine ganze Anzahl von Flüssigkeiten an; mir scheint jedoch, daß er diese weniger benutzte und daß sich seine Ergebnisse hauptsächlich auf Präparate stützen, welche in der Flamme fixiert waren. Nur auf diese Weise lassen sich einige seiner Beobachtungen erklären. Ich erwähne von diesen beispielsweise die „Traktionslinien“ der Amöben und die „Öffnungslinien“ der Cysten.

Er schreibt: „Auch ich versuchte die meisten dieser Substanzen [Alkohol-Äthergemisch, absoluter Alkohol, Müller'sche Flüssigkeit, Flemming'sche Lösung, 1% Sublimatlösung, Erhitzen, Sublimat-Alkohol, Pikrinessigsäure, Sublimat-Eisessig, Platinchlorid-Osmiumessigsäure, Pikrinschwefelsäure] und muß sagen, daß es zum größten Teil von der später zu verwendenden Farbe abhängt, ob man gute oder schlechte Resultate erzielt. Färbt man mit Hämatoxylin, so ist es besser, wenn man das Präparat nicht durch die Flamme zieht. Dies schädigt das Präparat jedoch in keiner Weise bei Verwendung von Anilinfarben. Freilich springen fast stets die Cysten auf und entleeren ihren Inhalt, aber das tun sie auch bei allen

anderen Methoden einschließlich der Härtung mit Osmiumdämpfen. — Ebenso ist auch keine Fixierungsmethode imstande, die Amöben an dem Einziehen ihrer Pseudopodien zu verhindern". Die erforderlichen Methoden werde ich weiter unten angeben. Welche Konservierungsflüssigkeit man dazu benutzt, ist natürlich ohne wesentliche Bedeutung, es kommt nur darauf an, wie man sie verwendet. Die von Zaubitzer (37) so geschätzte Methode des Erhitzens über dem Bunsenbrenner dagegen kann niemals ein brauchbares Präparat liefern und erklärt zur Genüge seine Kunstprodukte, gleichgültig, welche Farbe zur Verwendung gelangt.

Die von mir benutzten Konservierungsflüssigkeiten sind folgende: absoluter Alkohol, konzentrierte Sublimatlösung, Sublimat-Alkohol-Eisessig (konz. Sublimatlösung 50,0, absoluter Alkohol 50,0, Eisessig 5,0), Zenker'sche Flüssigkeit (Aq. destill. 100,0, Sublimat 5,0, Natr. sulf. 1,0, Kal. bichrom. 5,0, Eisessig 5,0). Die Härtung des Materials erfolgte in der bekannten Weise mittels Alkohol, event. nach vorhergehendem Auswaschen mit Jodalkohol.

Um die verschiedenen Bewegungsphasen zu erhalten, zerrieb ich auf dem Objektträger ein Stückchen amöbenhaltige Kahmhaut, welches einem Strohinfus entnommen war, und legte diesen dann auf 5—10 Minuten in eine feuchte Kammer. Nach dieser Zeit hatten sich die Amöben in genügender Zahl auf dem Objektglase festgesetzt und konnten so, wie sie ihre Pseudopodien ausgesandt hatten, durch eine geeignete Behandlung konserviert werden. Zu diesem Zwecke verwandte ich die Konservierungsflüssigkeiten stets in heißem Zustand, weil alsdann eine momentane Gerinnung des Protoplasmas ohne Schrumpfung und Zerreißung des Zellkörpers erfolgt. Es war mir in vielen Fällen sogar möglich, die kontraktile Vakuole zu erhalten. Es ist eigentlich überflüssig, zu erwähnen, daß die Präparate während der ganzen Behandlung nicht austrocknen dürfen, ich tue es nur, weil nicht allein Zaubitzer (37), sondern auch Schardinger (26) und Fajardo (11) ihr Material willkürlich eintrocknen ließen.

Die Konservierung wird dadurch bewerkstelligt, daß man die heißen Flüssigkeiten über die Objektträger gießt und einige Minuten lang einwirken läßt. Die nachher noch anhaftenden Reste der Kahmhaut entfernt man durch einen kräftigen Strahl der Wasserleitung. Man erhält auf diese Weise schöne saubere Präparate, welche neben einer Menge Amöben nur Bakterien enthalten, da die übrigen, meist größeren Tiere durch die Konservierungsflüssigkeit

oder den Wasserstrahl abgespült werden. Die Abspülung unter der Wasserleitung ist natürlich überflüssig, wenn es sich um Material handelt, welches künstlichen Nährböden entnommen ist.

Sehr einfach ist auch die Methode, abends Deckgläschen auf die Kahmhaut eines Strohinfuses zu legen. Die Amöben setzen sich alsdann während der Nacht in Mengen an die Gläschen und können am folgenden Morgen durch Einwerfen dieser in heiße Konservierungsflüssigkeiten konserviert werden. Anhaftende Stücke der Kahmhaut entfernt man wie oben angegeben ist.

Zur Konservierung der Cysten sind diese Methoden ungeeignet, einmal weil sie sich nicht auf dem Objektträger fixieren lassen, dann aber auch, weil sie bis auf eine verschwindend geringe Menge schrumpfen. Ich versuchte sie zunächst durch frisches Eiweiß auf dem Glase zu befestigen, aber wenn dies auch gelang, so konnte doch eine Schrumpfung durch die Behandlung nicht vermieden werden. Ich konservierte daher ganze Stücke cystenhaltiger Kahmhaut, bettete sie nach der weiteren erforderlichen Behandlung in Paraffin ein und zerlegte die Kahmhaut alsdann in Schnitte von 3,5 und 10 μ Dicke. Die Konservierungsflüssigkeiten sind dieselben, welche ich oben angeführt habe, sie wurden ebenfalls heiß verwendet und wirkten 5—10 Minuten ein. Die Härtung mittels Alkohol und die Übertragung in Xylol erfolgte durch ganz allmähliche Steigerung der Konzentration. Auf diese Weise erhält man eine Menge Cysten, welche nur wenig oder gar keine Schrumpfung aufweisen. Zum Aufhellen genügt Xylol.

Zum Studium der Kernteilungsverhältnisse legte ich auf gleiche Weise Schnittpräparate an, weil bei der Herstellung von Totalpräparaten zu viele Amöben von der Konservierungsflüssigkeit abgespült werden. Die Amöben sind auf den Schnitten rund oder oval.

Sog. Osmiumsäure gibt wegen der starken Bräunung schlechte Resultate.

Zur Färbung benutzte ich verschiedene Farbstoffe. Vor allen erwies sich die Heidenhain'sche Methode (Eisen-Hämatoxylin) als die geeignetste, namentlich zur Erkennung der Kernstruktur. Auch zur Nachbehandlung mit anderen Farbstoffen: Bordeauxrot, Erythrosin, Jodgrün etc. zwecks Doppelfärbung eignet sie sich vorzüglich. Außer den genannten Farben gelangten auch Hämatoxylin, Thionin und andere zur Verwendung. Pikrokarmin eignet sich nicht. Zur intravitalen Färbung ist eine stark verdünnte Lösung von Neutralrot zu empfehlen.

III. Körperbau.

1. Gestalt, Pseudopodienbildung und Bewegung.

Als Grundform des Plasmakörpers ist wie bei allen nackten Amöben eine allseitig abgerundete, ungefähr kuglige Gestalt anzunehmen. Man beobachtet diese Kugelgestalt unter gewissen Umständen immer wieder. Namentlich vor der Encystierung, dem Übergang in das Ruhestadium, ferner als Reaktion auf gewisse äußere Reize und endlich vor dem allmählichen Absterben.

Verreibt man amöbenhaltiges Material mit etwas Flüssigkeit auf einem Objektträger, so sieht man die Amöben abgerundet im Wasser schweben, bis sie allmählich zu Boden sinken. Nach C. Brandt (36) beruht dies Herabsinken auf einer Kontraktion des Körpers, wodurch eine Zunahme des spezifischen Gewichtes erzielt wird. An der Bodenfläche angelangt, breiten sie sich zunächst scheibenförmig aus und senden dann kurze, lappenförmige Pseudopodien: Lobopodien nach verschiedenen Richtungen, um sich an der Unterlage zu befestigen. Wenn in der Literatur der *A. l.* eine Pseudopodienbildung abgesprochen wird, so trifft diese Angabe doch nur insofern zu, als die eigentliche Fortbewegung des Plasmakörpers nicht durch eine solche erfolgt, das Tier ist jedoch wohl imstande, kurze, lappenartige Ausstülpungen zum Zwecke der Orientierung über die Umgebung zu bilden.

Die Körpergröße unterliegt im allgemeinen nur geringen Schwankungen. Es kommen Amöben vor, welche bei einer Breite von 0,75 μ eine Länge von 1,50—4,0 μ haben, die bei weitem größte Mehrzahl hat eine Größe von etwa 3,0 μ. Nach Zaubitzer beträgt sie 5—7 μ. Die Angaben in der Literatur sind überhaupt nicht gleich.

Die Bewegung ist charakteristisch für *A. l.* Sie erfolgt in bandartig gestreckter Form gleichsam fließend. Beobachtet man eine in Bewegung befindliche Amöbe, so sieht man, wie stets zunächst ruckweise, bruchsackartig das Ektoplasma am vorderen Pol vorfließt und alsdann das Entoplasma folgt. Die Bewegung setzt sich also aus einzelnen Phasen zusammen, welche zwar nicht gleich lang sind. und erfolgt in einer unregelmäßigen Zickzacklinie, so daß sie nicht gerade, wie vielfach angegeben, derjenigen eines fließenden Tropfens zu vergleichen ist. Der die Bewegungsrichtung angebende Pol ist der breitere, nach hinten zu nimmt der Plasmaleib sukzessiv an Breite ab und endet schließlich in einer stumpfen

Spitze. Annähernd in der Mitte liegt der Kern. Die Bewegung selbst geschieht langsam unter deutlich wahrnehmbarer Körnchenströmung. Die Geschwindigkeit in der Minute beträgt bis 12,0 μ; nach R. Behla (2) soll sie bei jungen Amöben größer sein. Der vordere Pol zeigt in der Bewegung wie die oben erwähnten Lobopodien einen breiten hyalinen Plasmasaum, am hinteren bemerkt man gelegentlich kurze stachelartige Fortsätze. Eine Zellmembran, welche Zaubitzer (37) nachgewiesen zu haben glaubt, besitzt *A. l.* nicht; die Beobachtung beruht auf schlechter Differenzierung der nach Heidenhain behandelten Präparate.

Wie gesagt ist die Körnchenströmung während der Bewegung deutlich sichtbar. R. Behla (2) und O. Bütschli (5) haben hierüber eingehende Beobachtnngen gemacht. Behla (2) schreibt: „... bei der fließenden Bewegung von *A. l.* erscheint eine Strömung des Plasmas von hinten nach vorn, dort angekommen, geht dieselbe rückwärts zu beiden Seiten des Körpers. Ungefähr in der Mitte macht dieselbe Halt, und es tritt ein relatives Ruhestadium ein. Darauf wird diese ruhende Partie wieder in den nach rückwärts rückenden Strom hineingezogen, so daß also eine Art Zirkulation des Leibesplasmas entsteht und eine fließende Bewegung damit verbunden ist.“ — O. Bütschli (5): „Der Vorgang dieser fließenden Bewegung des gesamten Rhizopodenleibes ergibt sich bei näherer Untersuchung in der Art, daß von der hinteren Region, d. h. der bei der Bewegung das Hinterende bildende Leibespartie, das Protoplasma beständig in einem Strom in der allgemeinen Bewegungsrichtung des Organismus nach dem vorderen Ende hineilt und, hier angelangt, zu beiden Seiten abfließend, sich in den seitlichen Teilen nach hinten wendet. Zu beiden Seiten der mittleren Leibesgegend sammeln sich so die zurückkehrenden Protoplasmamassen an und gehen in einen relativ ruhenden Zustand über, indem ihre Rückwärtsbewegung allmählich erlischt. Weiterhin werden dann diese Ansammlungen ruhenden Protoplasmas wieder in den nach vorwärts sich bewegenden Strom hineingezogen, so daß also eine Art Zirkulation des gesamten Leibesprotoplasmas die Grundlage für die fließende Bewegung des Körpers abgibt“. Ich habe mir die größte Mühe gegeben, bei *A. l.* diese innere Plasmazirkulation zu beobachten, jedoch mit negativem Erfolg. Nachdem das Ektoplasma vorgeflossen ist, rückt, wie erwähnt, das gekörnte Entoplasma mit seiner ganzen Masse nach und zwar ebenso stoßweise wie ersteres. Bei der Bewegung in gerader Richtung bemerkt man am Rande eine etwas geringere Geschwindigkeit, bei Biegungen des Zelleibes

ist die Geschwindigkeit auf der betreffenden Seite größer als auf der entgegengesetzten. Stets findet die Körnchenströmung — sie ist ja der Ausdruck derjenigen des Plasmas — nach vorn statt und nie ist sie am Rande rückläufig, wohin ich die Angaben der genannten Autoren für *A. l.* berichtigen möchte.

Ich habe oft Gelegenheit gehabt, bei *A. l.* eine eigentümliche Gestaltveränderung zu beobachten. Verworn (36) erwähnt sie ebenfalls bei *A. l.* Da ich sie jedoch auch bei *Pelomyxa* sah, ist hierin nicht eine spezielle Eigentümlichkeit der *A. l.* zu erblicken. Die Ursache, auf welche diese der *Amoeba radiosa* ähnelnde Körperform beruht, ist sicherlich auf einen chemischen Reiz zurückzuführen. Verworn (36) rief sie willkürlich hervor, indem er die Amöben in eine Flüssigkeit brachte, welche er zuvor durch einen geringen Zusatz von Kalilauge sehr schwach alkalisch gemacht hatte. Unter der chemischen Einwirkung ziehen sich die Amöben zunächst kuglig zusammen und senden dann verschieden lange und nach den verschiedensten Richtungen ausstrahlende feine, spitze Pseudopodien aus. Diese stachelartigen Fortsätze können in Ein- und Mehrzahl vorhanden sein und das kuglige Zentrum um das zwei- bis vierfache an Länge übertreffen. Je zahlreicher und länger sie auftreten, um so kleiner wird natürlich der eigentliche Plasmakörper. Eine Eigenbewegung scheint mir in diesem Zustand im Gegensatz zu Verworn (36) nicht stattzufinden, diesergestalt veränderte Amöben werden vielmehr vollständig passiv in einer Art Körperstarre von der Flüssigkeit bewegt und sind nicht imstande, sich an der Unterlage zu befestigen.

2. Das Plasma und seine Einschlüsse.

Der ganze farblose Plasmaleib ist dicht angefüllt mit stark lichtbrechenden, glänzenden Körnchen, so daß eine Unterscheidung von körnigem Entoplasma und hyalinem Ektoplasma in der Ruhe nicht möglich ist. Sobald jedoch Pseudopodien gebildet werden, oder wenn sich die Amöben in Bewegung befinden, ist letzteres als ein breiter, homogener Saum, von wenig stärkerem Lichtbrechungsvermögen als das umgebende Wasser, sichtbar. Unter diesen Umständen ist sogar die Trennung von Ento- und Ektoplasma ziemlich scharf. Die Menge des Ektoplasmas scheint mir mit der Nahrungsaufnahme in einem umgekehrten Verhältnis zu stehen. Ich habe nämlich beobachtet, daß bei gut ernährten Amöben, wie sie auf den künstlichen Nährböden anzutreffen sind, der Körper

stark mit Bakterien angefüllt ist und infolgedessen das Ektoplasma nur als schmale Differenzierung in der Bewegung hervortritt, während bei Nahrungsmangel oder wenn die Amöben in der feuchten Kammer — wahrscheinlich ans Sauerstoffmangel — ihre Ingesta ausstoßen, beide Plasmaarten in annähernd gleicher Menge vorhanden sind (Fig. 23).

Die kontraktile Vaknole ist gewöhnlich in der Einzahl vorhanden und entsteht in der Bewegung immer in der hinteren Körperhälfte. Die Bildung geschieht im Entoplasma; unter allmählicher Vergrößerung rückt sie an den der Bewegungsrichtung entgegengesetzten Pol, nähert sich dem Rande und entleert schließlich ihren Inhalt nach außen. In der ruhenden Amöbe nimmt die Vakuole keine bestimmte Lage an, ebenso erfolgen die Kontraktionen nicht in bestimmten Zeiträumen, sie werden namentlich von der Temperatur beeinflußt. Die Entleerung erfolgt. nachdem die Vaknole etwa einen Durchmesser von 0,4 μ erlangt hat.

Wie erwähnt, findet sich meistens nur eine Vakuole vor. ich konnte jedoch auch gelegentlich Amöben mit zweien beobachten Sie entstanden ebenfalls im Entoplasma und zwar dicht nebeneinander, vergrößerten sich annähernd gleichmäßig oder ungleichmäßig bis sie sich gegenseitig abplatteten und schließlich, zu einer Vakuole vereinigt, nach außen entleerten.

Die pulsierende Vakuole ist im lebenden Zustand von ihrer Entstehung bis zur Entleerung außerordentlich gut sichtbar. Der Umstand, daß sie auf Präparaten meist entleert war, spricht für die große Empfindlichkeit des Protoplasmas, denn, wenn auch der Zellkörper nicht imstande war, sich zur Kugel zusammenzuziehen, so genügte der Reiz doch bis auf wenige Ausnahmen die kontraktile Vakuole zu entleeren.

Neben dieser, die Atmung und Ausscheidung der löslichen Stoffwechselprodukte besorgenden Vakuole sind noch kleinere Vaknolen in größerer Menge bemerkbar. Es sind dies teils Flüssigkeits-, teils Nahrungsvakuolen, welche dem Plasma einen alveolären Bau verleihen (Fig. 23 u. 25). Die Nahrungsvakuolen sind zuweilen recht groß, so daß sie der pulsierenden Vakuole an Durchmesser nur wenig nachgeben. Ich habe ferner in einer Vakuole schon Bakterien in großer Anzahl vorgefunden, welche sich, so lange sie noch lebten, in schneller Bewegung befanden, so daß sie von einer Seite der Vakuole an die entgegengesetzte anprallten. Hieraus ist zu entnehmen, daß die Amöben eine Verdauungsflüssigkeit absondern. An konservierten Präparaten habe

ich häufig viele Bakterien in einer Vakuole zu sternförmigen Figuren vereinigt angetroffen. Man könnte hierdurch auf den Gedanken kommen, daß die Amöben die aufgenommenen Nahrungskörper schließlich in einer Vakuole vereinigen und alsdann nach außen entleeren. Ich habe jedoch eine derartige Vereinigung nur gelegentlich beobachtet und kann sie aus diesem Grunde nicht als konstante Erscheinung auffassen. Vielmehr bin ich der Ansicht, daß die verdaute Nahrung gewöhnlich gesondert und zwar am Hinterende, wenn sich das Tier in Bewegung befindet, entleert wird, wie ich dies auch häufig beobachtet habe.

Von Nahrungskörpern fand ich im Innern der *A. l.* nur Bakterien, auch konnte ich eine Aufnahme anderer Nahrung, beispielsweise von Pflanzenteilchen, nicht bemerken.

3. Das Absterben der Amöben.

Während man durch die erwähnten Konservierungsflüssigkeiten die Amöben ohne Veränderung des Körpers fixieren kann, äußert sich das allmähliche Absterben in anderer Weise. Setzt man beispielsweise die Amöben sog. Osmiumsäuredämpfen aus — letztere sind aus diesem Grunde zur Konservierung von *A. l.* nicht geeignet — so beobachtet man folgendes. Die Amoeben ziehen sich zunächst kugelig zusammen, so daß eine Differenzierung in Ento- und Ektoplasma nicht mehr zu erkennen ist. Der Körper erscheint alsdann gleichmäßig granuliert und stark lichtbrechend. Der Kern, anfangs noch deutlich sichtbar, verschwindet in kurzer Zeit, und daran anschließend zerfällt der Plasmakörper in eine Menge kleiner, runder, fettglänzender Körnchen, so daß dieser Zerfall dem Aussehen nach mit der fettigen Degeneration gewisser Metazoenzellen verglichen werden kann.

4. Der Kern.

A. l. besitzt, wenn es sich nicht um ein Fortpflanzungsstadium handelt, stets nur einen Kern (Fig. 1 u. 23). Dieser ist im lebenden Tier gut sichtbar und hat einen Durchmesser von 0,3—0,5 μ. Wie bei den meisten Süßwasser-Rhizopoden zeigt auch er einen bläschenförmigen Bau und läßt weniger gut am lebenden Objekt, aber sehr deutlich am gefärbten Material eine Kernmembran erkennen Der Binnenraum wird von einer hellen, vollständig durchsichtigen Flüssigkeit, dem Kernsaft, angefüllt und trägt im Innern den Binnenkörper. Dieser liegt immer im Zentrum, ist ebenfalls

kugelförmig und stark lichtbrechend. Die Größe beträgt 0,15—0,3 μ im Durchmesser, so daß der Binnenkörper den Kernraum bis auf eine schmale vom Kernsaft angefüllte Zone ausfüllt. Diese ist auf den gefärbten Präparaten zwischen dem stark färbbaren Binnenkörper und der Kernmembran als annähernd gleichbreiter Ring sichtbar.

Alles Chromatin und Achromatin des Kerns ist im Binnenkörper vereinigt, und dieser zeigt infolgedessen eine außerordentlich starke Färbbarkeit. Auch ist das Chromatin in solcher feinen Form in ihm angehäuft, daß er in gefärbtem Zustand eine dunkle, anscheinend homogene Masse darstellt. Auf Schnitten von genügender Feinheit bemerkt man dagegen eine feine Körnelung. Die Körnchen sind auf der ganzen Schnittfläche gleichmäßig und sehr dicht gelagert, so daß sie aus diesem Grunde in der Regel eine gleichmäßige Färbung und Zusammensetzung vortäuschen. Die einzelnen Körnchen erscheinen kugelrund, eine Verbindung zwischen ihnen habe ich nicht feststellen können. Diese feine Differenzierung innerhalb des Binnenkörpers habe ich nur nach der Konservierung mit Sublimat-Alkohol-Eisessig und Färbung nach der Heidenhain-schen Methode beobachtet.

Der Binnenkörper stellt kein starres Gebilde dar, denn ich hatte mehrmals Gelegenheit zu bemerken, daß er unter gewissen äußeren Einwirkungen wie ein elastischer Körper, also passiv, seine Gestalt ändern kann. War beispielsweise die Amöbe zwischen Pilzfäden u. dgl. eingeklemmt, und wurde alsdann die kontraktile Vakuole am Kern vorbeigepreßt, so genügte dieser Druck, um gleichzeitig den Binnenkörper für einen Augenblick abzuplatten. Sobald der Druck aufhörte, wurde die kugelige Form sogleich wieder angenommen. Es ist natürlich selbstverständlich, daß die nur mit Flüssigkeit gefüllte Vakuole unter dem gegenseitigen Druck ebenfalls ihre Form änderte. Eine gleiche Beobachtung hat Schaudinn (31) gemacht.

Zaubitzer (37) hat die oben beschriebene, zwischen Binnenkörper und Kernmembran befindliche helle Zone an der lebenden Amöbe nicht gesehen und hält daher den Binnenkörper für den Nukleus. Am konservierten Material ist sie ihm dagegen aufgefallen, und er erklärt sie hier, da sie ihm ja am lebenden Tier nicht aufgefallen war, als Kunstprodukt. Er schreibt: „Um ihn [NB! Zaubitzer's Nukleus] bildet sich ein feiner, hellerer Saum, der wohl infolge der Austrocknung und Schrumpfung des Objektes entsteht, kaum jedoch als Kernmembran aufzufassen ist, weil eben im lebenden Objekt die Konturen des Kernes nicht mehr deutlich sichtbar sind und eine „Membran" sich erst recht deutlich dokumentieren dürfte". Dementsprechend geben seine nach der Natur gezeichneten Abbildungen ein falsches Bild von *A. l.*, da hier überall die helle Kernzone unbeachtet gelassen wurde.

An der zitierten Stelle handelt es sich nach ZAUBITZER's (37) Ansicht um ein „Teilungsstadium“, weil sowohl auf den Präparaten als auch an den lebenden Amöben die Konturen des Kernes verwaschen erschienen. Man muß demnach doch wohl annehmen, daß er die helle Kernzone wenigstens gelegentlich gesehen hat, sie nur nicht als normales Gebilde erkannte und daher irrtümlich derartige Befunde für „das zweite Stadium der Teilung“ hielt. Die Kernmembran hat ZAUBITZER (37) jedenfalls nicht gesehen, die Ursache hierfür hat man höchstwahrscheinlich in seiner eigenartigen Untersuchungstechnik zu suchen. Ich vermochte wenigstens nach dieser Methode nicht ein einziges Präparat darzustellen, welches nur annähernd die natürlichen Verhältnisse wiedergegeben hätte.

ZAUBITZER (37) hält also, wie gesagt, den Binnenkörper für den Nukleus. In diesem hat er nun ein Körperchen beobachtet, welches sehr schlecht Farbstoffe aufnimmt, und zu welchem sich bald (?) ein zweites hinzugesellt. „Jedoch liegt es mir fern“, fährt er fort, „ein Urteil darüber abzugeben, ob dieser zweite Nukleolus, als solchen darf man ja wohl das „Körperchen“ ansprechen, sich aus dem ersten oder unabhängig von ihm bildet.“ Wäre dies, wie ZAUBITZER (37) glaubt und die angeführte Abbildung erläutert, ein Fortpflanzungsstadium, so hätte sich der vermeintliche zweite Nukleolus natürlich nur aus dem ersten und zwar durch Teilung bilden können. In Wirklichkeit aber existiert weder das eine noch das andere ZAUBITZER'sche Körperchen, und da er sie auch an lebenden Amöben und sogar mit nachfolgender Plasmateilung beobachtet haben will, kann ich sie nur als ein Phantasiegebilde erklären. Für die erwähnten Körperchen in seinen Dauerpräparaten hat man wohl auch hier die nicht genügende Konservierungstechnik verantwortlich zu machen. ZAUBITZER (37) pflegte nämlich, wie schon erwähnt, sein Material nach der in der Bakteriologie gebräuchlichen Methode in der nichtleuchtenden Gasflamme zu fixieren, und diese rapide Austrocknung der zarten Organismen besagt genug.

Bezüglich der Körperchen ZAUBITZER's (37) ist noch zu erwähnen, daß ich derartige Gebilde an meinem Material nie gesehen habe. Namentlich nicht in meinen Serienschnitten, wo tausende von Amöben in jedem Schnitt vorlagen, hatte nicht ein einziger Kern ein derartiges Körperchen aufzuweisen, obgleich gerade in diesen Schnitten — deren Anfertigung ZAUBITZER (37) leider unterlassen hat — diese vermeintlichen Nukleoli um so deutlicher hätten hervortreten müssen.

5. Die Cysten.

Die Cysten von *A. l.* haben meist kugelige Gestalt und sind annähernd von gleicher Größe. Der Durchmesser beträgt durchschnittlich 1,50 μ; zuweilen findet man auch Cysten, welche etwas abgeplattet sind. Die Farbe ist hellbraun, die Cystenwand ist durchsichtig und läßt den granulierten Inhalt und den stets exzentrisch gelegenen Kern mit Binnenkörper erkennen. Vakuolen einschl der kontraktilen Vakuole sind nicht vorhanden (Fig. 26).

Die Cysten liegen vereinzelt, zu mehreren oder auch in kleinen Häufchen beisammen in der Kahmhaut des Strohaufgusses (Fig. 27) In den Cystenhäufchen habe ich bis über 100 gezählt, sie waren aber niemals zu sog. Sori vereinigt und auch selbst ungestielt. Die

Eigenschaft der *A. l.*, sich dort anzulagern, wo schon Cysten gebildet sind, findet man auch bei anderen Amöben, beispielsweise nach Scheel (33) bei *Amoeba proteus*. An anderer Stelle, an der es sich um die Frage handelt, ob *A. l.* eine echte Amöbe oder eine *Myxomycet* ist, werde ich hierauf nochmals zu sprechen kommen.

Ich habe bei diesen Untersuchungen stets Cysten verwendet, welche der Kahmhaut eines Strohinfuses entnommen waren, und nicht diejenigen, welche einem künstlichen Nährboden entstammten. Auf letztere werde ich jedoch auch an anderer Stelle zurückzukommen haben.

a) Bau der Cystenwand.

Die Cystenhülle ist konzentrisch geschichtet und besteht aus 2 Lamellen, ihre Dicke beträgt $^1/_3$—$^1/_4$ des obengenannten Cystendurchmessers, also etwa 0.3—0,37 μ. Zaubitzer (37) gibt irrtümlicherweise 1 μ als Dicke an. Scheel (33) hat bei *Amoeba proteus* noch eine 3. Lamelle als innerste mit einer Dicke von 1 μ bei einem Gesamtdurchmesser der Cysten von 70—140 μ feststellen können. Es ist möglich, daß auch die Cyste von *A. l.* diese 3. Hüllschicht besitzt, es war mir jedoch unmöglich, eine solche zu erkennen. Selbst, wenn sich der sonst der Wandung dicht anliegende Amöbenkörper beim Konservieren und Schneiden abgelöst hatte, ist mir der Nachweis wegen der Kleinheit des Objektes nicht gelungen. Die beiden erkennbaren Hüllen sind annähernd gleich dick (Fig. 26).

Die äußere Cystenhülle besitzt eine wellenförmige, mit einzelnen unregelmäßigen Höckern versehene Oberfläche und hat, wie Scheel (33) bei *Amoeba proteus* festgestellt hat, eine gallertige Beschaffenheit. Diese Schicht ist die älteste, befestigt die Cysten an Fremdkörper, wie Pflanzenteilen, anderen Cysten etc., und plattet sich an den Befestigungsstellen ab (Fig. 27). Sie kann sogar bei der Zusammenlagerung mehrerer Cysten eine polyederartige Umrandung erhalten. Aus der Befestigung an fremde Gegenstände geht hervor, daß sie, wenigstens zur Zeit ihrer Bildung, eine klebrige Beschaffenheit gehabt haben muß. Im Alter zersplittert sie.

Die innere Schicht ist nach beiden Seiten scharf begrenzt und bedingt die hellbraune Färbung der Cysten. Sie zeigt ein homogenes Aussehen und überall eine gleichmäßige Dicke.

b) Bildung der Cyste.

Man kann willkürlich *A. l.* zur Cystenbildung veranlassen. Man hat nur nötig ein Stückchen amöbenhaltige Kahmhaut, mit einem Tropfen Leitungswasser verrieben, in die feuchte Kammer zu

bringen. Schon nach einigen Stunden kann man alsdann den Beginn der Encystierung bei vielen Amöben beobachten. Die Art und Weise der Cystenbildung ist ähnlich wie die von Scheel (33) eingehend bei *Amoeba proteus* geschilderte.

Die Amoeben werden zunächst sehr träge, bleiben schließlich an einer Stelle liegen und runden ihren Körper nach allen Seiten ab. Die im Plasma enthaltenen Nahrungskörper und Vakuolen werden entleert, auch die kontraktile Vakuole stellt nach einiger Zeit ihre Tätigkeit ein, und das Plasma nimmt alsdann ein eigentümliches Aussehen an. Es erhält zunächst durch die Ausscheidung von Flüssigkeit eine kompaktere Form, so daß der Kern im Innern nicht mehr sichtbar, auch eine Trennung in Ento- und Ektoplasma nicht erkennbar ist. Dagegen treten kleine dunkle Körperchen deutlich hervor, welche vielleicht den von Brauer (17) genau untersuchten Körnchen von *Actinosphaerium Eichhorni* vergleichbar sind. R. Hertwig (17) stellte sie den Dotterplättchen der Eier gleich und belegte sie dementsprechend auch mit demselben Namen. Über das Schicksal resp. die Verwendung dieser Plättchen habe ich nichts Näheres feststellen können. Bei *Actinosphaerium Eichhorni* wandeln sie sich nach der Beobachtung R. Hertwig's (17) in homogene Klümpchen um, die zu einer netzförmig angeordneten Schicht untereinander verkleben. Zaubitzer (37) hält diese „kernähnlichen Körperchen" für Produkte eines Teilungsvorganges, welche sich später in Amöben umwandeln sollen.

Dieser als „Sporulation" bezeichnete Teilungsprozeß soll jedoch nach Zaubitzer (37) im Gegensatz zu der Scheel'schen (33) Beobachtung an *Amoeba proteus* schon vor der Encystierung beginnen. Die Weiterentwicklung der Teilstücke soll nach Entleerung der Cysten in Heydenwasser zu verfolgen sein. Er sagt: „Zuerst liegen diese stark lichtbrechenden Körper bewegungslos da und nehmen an Volumen zu, bis plötzlich Leben in sie kommt. Indem sie sich um sich selbst drehen, gleiten sie rasch durch das Gesichtsfeld. Was diesen Elementen Bewegung verleiht, weiß ich nicht, doch halte ich ein Flagellatenstadium für nicht ausgeschlossen. Am nächsten Tage sieht man die Tiere wieder ruhig liegen, das Plasma ist schwach lichtbrechend und zeigt hier und da schon einen Kern und eine Vakuole". Obgleich eine derartige Fortpflanzung bei Amöben nicht ausgeschlossen ist, habe ich sie doch bei *A. l.* nicht beobachtet. Das gleichzeitige Auftreten der Dotterplättchen und der Körperchen Zaubitzer's (37), sowie seine Abbildungen weisen unzweifelhaft darauf hin, daß beide identisch sind. Aus der Nichtbeteiligung des Cystenkerns, welcher zwar durch die Plättchen zunächst verdeckt, nach Beendigung der Cystenbildung aber wieder deutlich sichtbar wird, geht weiter hervor, daß diese Körperchen mit der Fortpflanzung nichts zu tun haben. Nun ist zwar Zaubitzer (37) der Ansicht, daß die Kerne der Sprößlinge erst später, also unabhängig von dem Kern des Muttertieres gebildet werden. Ich wage hierfür, sowie für die Weiterentwicklung der Sprößlinge im Sinne Zaubitzer's (37)

keine Erklärnng abzugeben und will nnr nochmals hervorbeben, daß icb eine multiple Teilnng innerbalb der Cyste bei *A. l.* nicbt beobachtet habe. Nur ein einziges Mal habe ich eine Cyste mit zwei Kernen gefunden (Fig. 27). Man geht wobl nicht febl, wenn man bier eine Verwechslnng Zaubitzer's der freien stark lichtbrecbenden Körperchen mit Pilzsporen und anderen Protozoen — vielleicbt *Monas* vermutet, welcbe durcb Verunreinignug der Knltnren auftraten (man vgl. seine Abbildungen).

Die nach Bildnug der Dotterplättchen anfangs noch ruhig liegende Protoplasmamasse geht weiterhin in eine eigentümlich zitternde und zugleich drehende Bewegung über. Der ganze Inhalt sieht wegen der Plättchen wie ein wimmelnder Bakterienhaufe aus. Die Bewegung ist sehr lebhaft und ändert in jedem Augenblick ihre Richtung, so daß es mir unmöglich war, die Drehung zu verfolgen. Gleichzeitig beginnt die Bildung der Cystenhüllen.

c) Das Verlassen der Cysten.

Um das Ausschlüpfen der Amöben aus ihren Cysten beobachten zu können, bringt man Cysten mit einer dünnen Lösung von Fucus crispus in eine feuchte Kammer. Auch gelingt diese Beobachtung auf einem gewöhnlichen Objektträger, man muß in diesem Fall nur sehr vorsichtig das Verdunsten der Flüssigkeit verhindern. Alsdann verschwindet die äußere gallertige Cystenhülle nach einiger Zeit, und die Amöbe beginnt im Innern sich zu drehen. Diese Bewegung ist jedoch nicht derjenigen vor der Cystenbildung vergleichbar. Hier kriecht die Amöbe gewissermaßen in der Cyste umher, wobei auch gelegentlich das Plasma von der Wand zurücktritt und einen deutlichen Spalt sehen läßt. Während der Bewegung oder schon vorher wird eine kontraktile Vakuole gebildet, so daß man namentlich aus diesem Grunde wohl mit Sicherheit annehmen kann, daß die kompakt erscheinende Cystenhülle, jedenfalls in bezug auf die innere Schicht, nicht ganz undurchlässig ist. Bei der Bewegung wird schließlich die Hülle durch Druck von innen gesprengt und die Amöbe kriecht heraus.

Die Amöbe zeigt nun vorläufig noch die dem Cystenlumen entsprechende Größe, und das Protoplasma befindet sich noch in der vor der Encystierung angenommenen kompakten Form. Nach kurzer Zeit jedoch lockert sich das Plasma durch die Bildung von Vakuolen, es nimmt wieder einen bläschenförmigen Bau an, und der Amöbenkörper gewinnt so an Ausdehnung. Die Größenzunahme der ausgeschlüpften *A. l.* ist somit in erster Linie auf eine nachträgliche Vakuolenbildung zurückzuführen.

IV. Fortpflanzung.

Die Kernmembran umschließt, wie erwähnt, einen stark lichtbrechenden, wohl von Kernsaft angefüllten Raum, in dessen Mitte ein verhältnismäßig großer, stark färbbarer Binnenkörper liegt (Fig. 1). Dieser besteht, wie aus späterer Darstellung erkenntlich wird, sowohl aus chromatischer, wie auch aus achromatischer Substanz.

Bei der Kernteilung streckt sich der Binnenkörper zunächst etwas in die Länge, und es tritt alsdann eine Sonderung in chromatische und achromatische Substanz ein. Diese Differenzierung des Binnenkörpers in seine beiden Substanzen ist gleichzeitig mit einer Zweiteilung der Chromatinmasse verbunden. Diese zieht sich nämlich allmählich nach den Polen des sich streckenden Binnenkörpers auseinander, wie aus den Fig. 2 u. 3 hervorgeht, bis sie sich in der Mitte nach Art der direkten Kernteilung durchgeschnürt hat. In Fig. 4 ist die Trennung beendet; in der Mitte liegt die achromatische Substanz, deren Polen zwei Chromatinkörper aufliegen. Diese, welche ich im folgenden als Polkörper bezeichnen werde, nehmen eine etwa halbkugelförmige Gestalt an und sind mit ihren planen oder etwas konkaven Flächen einander zugekehrt. Die achromatische Substanz liegt als breite tonnenförmige Verbindungsbrücke zwischen ihnen. Sie läßt zunächst keine Struktur erkennen, ordnet sich aber allmählich zu undeutlichen, parallel verlaufenden Fäden, so daß es damit zu einer Spindelbildung kommt. Sämtliche Bestandteile der Spindel werden anscheinend vom Binnenkörper geliefert.

Nach dem Auftreten der Spindelfasern sieht man in der Mitte, gleichweit von den Polkörpern entfernt und parallel zu ihnen staubförmige Chromatinkörnchen auftreten (Fig. 6). Diese Chromatinansammlung ist durch ihre starke Färbbarkeit schon frühzeitig zu erkennen, zunächst nur als schwache Schattierung bis die Körnchen in größerer Menge auftreten und dadurch der Abstand zwischen ihnen ein geringerer wird (Fig. 7). Es handelt sich hier um die erste Anlage der Äquatorialplatte.

Die Bildung dieser erfolgt in der Regel sogleich nach der Spindelbildung. In einzelnen Fällen dagegen findet man schon eine leichte Andeutung der Äquatorialplatte bzw. ihres Vorläufers, wenn die beiden Polkörper noch eine fadenförmige Verbindung zeigen. Die Fig. 5 zeigt ein derartiges Stadium, in welchem die beiden Polkörper noch durch einen chromatischen Faden verbunden sind. Die

Abbildung vereinigt gewissermaßen zwei Stadien zu einem, nämlich das dem Stadium der Fig. 4 unmittelbar vorhergehende und dasjenige der Fig. 6, so daß diese, wenn auch anormale Teilungserscheinnng ohne Zweifel die Anfeinanderfolge der beiden getrennten Stadien erkennen läßt. — Während der Teilung rücken die beiden Polkörper immer weiter auseinander, so daß die Spindel gleichzeitig entsprechend länger und schmäler wird.

Nachdem die Äquatorialplatte durch beständige Anlagerung von Chromatinkörnchen eine gewisse Ausdehnung erhalten hat, ordnen sich die Körnchen durch Zusammenlagerung zu Chromosomen (Fig. 8 u. 9). Die Zahl der Chromosomen beträgt stets drei. ihre Stellung ist parallel den Spindelfasern. Da es sich um Schnittpräparate handelt, ist die verschiedene Größe der Chromosomen in der gleichen Figur auf die Schnittrichtung zurückzuführen. Daß die Chromatinmasse in der Fig. 12 eine größere ist, wie beispielsweise in Fig. 11, kann nicht weiter verwundern, da die Kerne von verschiedenen Amöben stammen und aus den Serienschnitten ausgewählt wurden.

Die drei Chromosomen teilen sich nun in sechs ebenfalls längsgestellte Tochterchromosomen (Fig. 10) und rücken in der Richtung nach den Polkörpern auseinander (Fig. 11). Allmählich treten sie an diese heran und sind durch auffallend stark gefärbte Spindelfasern (Fig. 12) mit ihnen verbunden. Sie wachsen andauernd und nehmen dabei eine keulenförmige Gestalt an. Ihr verdicktes Ende ist den Polkörpern zugewandt (Fig. 12 u. 13). Mit dem Wachstum wird ihr Abstand voneinander immer geringer, so daß schließlich eine Vereinigung innerhalb der Tochterplatten zustande kommt (Fig. 12 u. 13). In Fig. 14 u. 15 sind die Chromosomen der Tochterplatten bereits verschmolzen und haben sich nach außen abgerundet.

Die beiden Polkörper, welche zu Beginn der Teilung zusammen eine dem Binnenkörper entsprechende Größe zeigten, sind während des Teilungsvorganges immer kleiner geworden, so daß sie in Fig. 15 zu einem kappenartigen Gebilde zusammengeschmolzen, bzw. in zwei kleine Stücke zerfallen sind. Dieser Zerfall der Polkörper ist nicht notwendig, tritt aber gelegentlich schon in jüngeren Stadien auf. Die Zahl der Teilstücke ist ebenfalls verschieden. Die Polkörper oder deren Teilstücke bleiben stets durch achromatische Substanz untereinander und mit den Tochterplatten verbunden, bis ihre Chromatinmasse allmählich ganz in diese übergeht (Fig. 16). Alsdann findet eine Abrundung nach allen

Seiten statt, und die Bildung von zwei Tochterbinnenkörpern ist beendet. Jeder Tochterbinnenkörper entsteht mithin aus einer Tochterplatte, einem Polkörper und der halben Spindel.

In vielen Fällen kommt die beschriebene Ausbildung von Chromosomen nicht zustande, sondern man beobachtet dann, daß der Vorläufer der Äquatorialplatte — die Ansammlung feinster Chromatinkörnchen — sich verdichtet und nach den beiden Polkörpern sich verbreitert, ohne sich in Chromosomen zu differenzieren (Fig. 7 u. 17). Das Mittelstück teilt sich später durch einfache äquatoriale Durchschnürung (Fig. 18—21). In Fig. 20 sind beide Teilstücke noch durch einen feinen Chromatinfaden verbunden, der in Fig. 21 auch gerissen ist. Das Endresultat ist hier dasselbe wie oben, so daß sich an Fig. 21 wieder Fig. 14, 15 u. 16 anschließen würde.

Das Verhalten der Kernmembran, welches ich bis jetzt noch nicht berücksichtigt habe, läßt nichts Absonderliches erkennen. Sie bleibt während des ganzen Kernteilungsprozesses erhalten und schnürt sich, sobald sich die Tochterplatten eine gewisse Strecke voneinander entfernt haben, zwischen beiden ein, bis sie sich teilt und die beiden Tochterspindeln voneinander trennt. Die Teilstücke werden nun bei der Bewegung der Amöben häufig verschoben, so daß ihre Lage zueinander geändert werden kann. An die Durchschnürung der Kernmembran schließt sich diejenige des Plasmaleibes in der Regel sogleich an, so daß die Vereinigung von Tochterplatten und Polkörpern gewöhnlich erst in den Tochteramöben erfolgt. Dies hat zur Folge, daß man nur selten eine Amöbe mit zwei vollständig ausgebildeten Kernen zu sehen bekommt.

Ich habe im vorhergehenden möglichst objektiv den Kernteilungsprozeß an der Hand der Abbildungen zu beschreiben versucht und mich nun weiter bemüht, für die verschiedenen Vorgänge eine Erklärung zu finden. Ich möchte diese jedoch mit allem Vorbehalt aussprechen. — In dem sich zur Teilung anschickenden Kern geht zunächst eine Umwandlung vor sich, deren Ergebnis die Trennung der chromatischen von der achromatischen Substanz ist. In dieser Umlagerung der Substanzen hat man nichts Auffälliges zu erblicken, sie wird bei Protozoen häufig beobachtet, wenn die Trennung von Chromatin und Achromatin nicht schon im ruhenden Kern besteht. Merkwürdig ist nur, daß die Chromatinmasse gleichzeitig zur Bildung der Polkörper, welche als solche nach Art der Polplatten den ganzen Teilungsprozeß beherrschen, verwandt wird. Ich werde später nochmals hierauf zurückzukommen haben.

Es fragt sich weiter, woher die Chromatinkörnchen kommen, durch deren Vereinigung die Äquatorialplatte gebildet wird, und auf welche Weise das Wachstum der Tochterplatten stattfindet. Zur Beantwortung dieser Frage ist es notwendig, den auffallenden Größenunterschied zwischen den Polkörpern und der zugehörigen Äquatorialplatte (Fig. 6) bzw. den zugehörigen Tochterplatten (Fig. 15) zu beachten. Es ist klar, daß die Polkörper sich im Verlauf der Teilung von Fig. 6–15 auffallend verkleinert, die Äquatorial- bzw. die Tochterplatten sich dagegen sehr vergrößert haben. Schließlich wird die ganze Masse der Polkörper von letzteren aufgenommen (Fig. 16). Ich vermute daher, daß die Anlage und das Wachstum der Äquatorialplatte und das Wachstum der Chromosomen auf Kosten der Polkörper erfolgt. Für diese Vermutung spricht nächst den genannten Größenverhältnissen und der schließlichen Vereinigung von Polkörpern und Tochterplatten auch das Wachstum der Chromosomen an den den Polkörpern zugewandten Enden, wodurch die keulenförmige Gestalt zustande kommt (Fig. 12 u. 13).

Es fragt sich nun weiter, wie der Übertritt des Chromatins von den Polkörpern zu Äquatorial- und Tochterplatten vor sich geht. Da die erste Anlage der Äquatorialplatte als eine Vereinigung kleinster Chromatinkörnchen auftritt, kann man wohl auch mit ziemlicher Sicherheit annehmen, daß der folgende Übertritt des Chromatins, welcher die Vergrößerung der Äquatorialplatte und Chromosomen verursacht, in Form kleinster Körnchen erfolgt. Es würden sich demnach fortwährend an den zugewandten Flächen des Polkörpers kleinste Chromatinkörnchen ablösen und an Äquatorial- und Tochterplatten anlagern. Auf diese Weise würde auch der Zerfall der Polkörper, sowie das keulenförmige Wachstum der Chromosomen verständlich. Für diese Erklärung spricht ferner noch ein anderer Umstand. Während nämlich die Spindelfasern für gewöhnlich nur unklar hervortreten, werden einige mit der fortschreitenden Ausbildung der Chromosomen deutlicher sichtbar (Fig. 11 u. 12). Dieses stärkere Hervortreten ist natürlich auf eine stärkere Färbbarkeit zurückzuführen. Da aber die Spindelfasern alle aus achromatischer Substanz bestehen, können einzelne nur dann stärker färbbar sein, wenn ihnen Chromatin anhaftet. Ich vermute daher, daß die Chromatinkörnchen an den betreffenden Spindelfasern entlang wandern und diese deshalb bei der Färbung deutlicher hervortreten lassen.

Als Ursache der nach Fig. 17—21 verlaufenden Teilung kann

man vielleicht eine frühzeitige Verklumpung der Chromosomen annehmen, oder es unterbleibt überhaupt die Chromosomenbildung aus unbekannten Gründen.

Die Teilung der Chromosomen in Tochterchromosomen habe ich nicht beobachten können. Mir scheint jedoch die Fig. 22 hierüber Auskunft zu geben. Nach dieser würden die Tochterchromosomen durch einfache äquatoriale Querteilung gebildet werden.

Der genannte Kernteilungsprozeß ist unbedingt als ein mitotischer zu bezeichnen. Hierfür sprechen die Bildung der Spindelfasern und der Chromosomen. Wenn die Kernteilung auch nicht nach dem typischen Schema der Karyokinese wie bei Metazoenzellen und einigen Protozoen verläuft, so ist doch zu bedenken, daß bei letzteren noch primitivere Verhältnisse vorliegen und sich deshalb überhaupt noch kein einheitliches Schema aufstellen läßt, auch die einzelnen Übergänge fehlen. Die bei den Protozoen bekannten Kernteilungen zeigen die verschiedensten Formen, so daß sie aus diesem Grunde nur schwer miteinander in Einklang zu bringen sind. Man vergleiche nur die Art und Weise der Kernteilungen von *Aktinosphaerium Eichhorni* (17), *Euglena viridis* (20), *Amoeba binucleata* (30), *Euglypha alveolata* (32), *Spirochona gemmipara* (18), *Paramoeba eilhardi* (29) etc. und man wird finden, daß sich wohl in einzelnen Phasen derselben Ähnlichkeiten auffinden lassen, der Gesamtverlauf der Kernteilung jedoch isoliert dasteht. Erst nach Abschluß meiner Untersuchungen wurde ich auf eine Arbeit Loewenthal's (40) aufmerksam, welche einen recht gleichartigen Kernteilungsprozeß behandelt und welche ich einer eingehenden Betrachtung unterziehen werde.

Während bei den Metazoenzellen dauernd gewisse Zellorgane, die Zentrosomen vorhanden sind und den Kernteilungsvorgang leiten, können diese wohl auch bei Protozoen auftreten, in der Regel genügt hier jedoch die achromatische Substanz des Kerns, um die Teilung zu vermitteln. R. Hertwig (17) vergleicht diesen Kern deshalb einem automatisch funktionierenden Apparat.

Bei *Euglena viridis* (20) und auch bei *Amoeba crystalligera* (28) hat das Nukleolo-Zentrosom die Funktion des Zentrosoms übernommen, bei *Euglena* spricht hierfür zweifellos die Ansammlung der Chromosome in der Äquatorialzone und das Auseinanderrücken der Tochterchromosomen. Spindelfasern werden dagegen noch nicht gebildet. Bei *Amoeba crystalligera* haben wir einen noch ursprünglicheren Zustand vor uns, indem hier weder Spindelfasern noch

Chromosomen gebildet werden, so daß diese Kernteilung einen Übergang von der direkten zu den primitiven karyokinetischen Vorgängen der Protozoen bildet. Bei beiden ist das Nukleolo-Zentrosom ein Dauerorgan.

Die den Kernteilungsvorgang beherrschenden Gebilde müssen jedoch nicht dauernd vorhanden sein. Die sogenannten Polplatten. welche man bei *Aktinosphaerium* (17), *Amoeba binucleata* (30), *Spirochona* (18), *Kentrochona* (9) findet, werden erst zu Beginn des Kernteilungsprozesses durch Differenzierung innerhalb der Kernsubstanz gebildet. Hinsichtlich ihrer Funktion werden sie von den angeführten Autoren direkt den Zentrosomen der höheren Zellen gleichgestellt. Unter dem Einfluß der Polplatten können sowohl Spindelfasern wie auch Chromosomen gebildet werden. Dies ist der Fall bei *Aktinosphaerium* und *Amoeba binucleata*, während bei *Spirochona* und *Kentrochona* beides unterbleibt. Bei den letzteren teilt sich die Chromatinmasse durch einfache äquatoriale Einschnürung. Bei *Aktinosphaerium* und *Amoeba binucleata* kommen außer den Polplatten noch eigentümliche protoplasmatische Gebilde vor, welche außerhalb der Kernmembran den Spindelpolen aufsitzen und über deren Funktion man noch nicht im klaren ist. Es sind dies die Plasmakegel bzw. Plasmakappen. Ihre Rückbildung erfolgt nach Abschnürung der Tochterkerne zugleich mit den Polplatten.

Bei *Paramoeba eilhardi* (29) verläuft die Kernteilung unter dem Einfluß des „Nebenkörpers". Dieser teilt sich zuerst; der Kern wandert alsdann zwischen dessen Teilstücke, bildet hier eine Äquatorialplatte und teilt sich in die auseinanderrückenden Tochterplatten.

Die Kernteilung von *A. l.* unterscheidet sich von vornherein von derjenigen der genannten Protozoen durch den auffallenden Chromatinreichtum und durch die Vereinigung dieser Substanz in einem fälschlich mit dem Nucleolus verglichenen Binnenkörper. Trotzdem läßt sich in den einzelnen Kernteilungsvorgängen namentlich von *Aktinosphaerium*, *Spirochona* und *Kentrochona* einerseits und derjenigen von *A. l.* viel Verwandtes nachweisen.

Die Kernteilungsfiguren von *Spirochona* (18) (l. c. Tafel XII, Fig. 17a—g) und *Kentrochona* (9) (l. c. Taf. 46 Fig. 31, 33 u. a.), deren Teilungen nach demselben Schema verlaufen, lassen auf den ersten Blick große Ähnlichkeit mit meinen Abbildungen (Fig. 7, 17—20) erkennen. Auch bei diesen Protozoen gehen der Kernteilung Umwandlungen innerhalb des Kerns voraus, welche zu einer Um-

lagerung der Kernmasse führen und zwar derartig, daß in dem Mittelstück — in der Hauptsache, wie DOFLEIN sagt — chromatische, an den Polen achromatische Substanz (Polplatten) liegt. Die Ähnlichkeit besteht natürlich nur mit demjenigen Teilungsprozeß von *A. l.*, bei dem die Chromosomenbildung unterbleibt und die Teilung durch äquatoriale Einschnürung des Mittelstücks erzielt wird. Ein erheblicher Unterschied liegt jedoch in der Bildungsmasse der Polplatten bzw. Polkörper.

Die letzteren bestehen, wie gesagt, aus Chromatin, und hierfür läßt sich kein Analogon in der Literatur auffinden. Dementsprechend ist auch die Zusammensetzung der Spindel eine andere. Während nämlich die Polplatten bei genannten Protozoen dem Mittelstück direkt aufsitzen, sind die Polkörper mit diesem durch achromatische Fasern verbunden. Wenn schon die Färbung für den Chromatingehalt der Polkörper spricht, so läßt auch die ganze Art ihrer Bildung (Fig. 1—4) kaum einen Zweifel über ihre Zusammensetzung zu. Die Differenzierung des ruhenden Kerns in chromatische und achromatische Substanz geht in der denkbar einfachsten Weise vor sich, so daß es ausgeschlossen ist, etwa an eine mangelhafte Differenzierung der nach HEIDENHAIN behandelten Präparate zu denken. Infolge der Bildungsmasse der Polkörper, dann aber auch infolge ihrer sukzessiven Verkleinerung unter gleichzeitiger Bildung bzw. Vergrößerung der Chromosomen — was nach meiner Meinung auf ihre Kosten erfolgt — war es unmöglich, sie gleichfalls als Polplatten zu bezeichnen, wenn sie auch durch Lage und Funktion große Ähnlichkeit mit diesen haben.

Da Polplatten und Zentrosomen aus Achromatin bestehen, scheinen mir in betreff der Polkörper bei *A. l.* primitivere Verhältnisse vorzuliegen. Es wäre möglich, daß der große Reichtum an Chromatin einen Mangel an Achromatin mit sich brächte, so daß ersteres zum Aufbau der die Zentrosomen ersetzenden Gebilde verwandt wird, bis ihr richtender Einfluß nach Verschmelzung der Tochterchromosomen überflüssig wird und ihre vollständige Aufnahme in die Seitenplatten erfolgt. Die Übernahme der Funktion der Zentrosomen durch achromatische Polkörper ist allerdings um so sonderbarer, als bis jetzt das Achromatin — Linin nach R. HERTWIG — als das die Kernteilung veranlassende Element angesehen wird.

Bezüglich der Chromosomenbildung bei der „typischen Karyokinese der nicht encystierten *Aktinosphärien*", sagt R. HERTWIG (17): „Zwischen den Polplatten ordnet sich das Kernnetz zu Spindel-

fasern um. Auf letzteren sind die feinsten Chromatinkörnchen anfangs gleichförmig verteilt, später rücken sie von den Polplatten weg und drängen sich im Äquator zusammen. So entsteht die Äquatorialplatte, eine Summe von Stäbchen, die aus zusammengedrängten Chromatinkörnchen bestehen. Indem sich die Stäbchen (Chromosomen) teilen und ihre Teilprodukte in der Richtung der Kernpole auseinander weichen, bilden sich die Seitenplatten, welche allmählich bis an die Kernpole heranrücken". Die erste Anlage der Äquatorialplatte erscheint auch hier zunächst als eine unregelmäßige Anhäufung staubförmiger Chromatinkörnchen, die sich zu kleinen parallel gestellten stäbchenförmigen Chromosomen kondensieren. Schließlich vereinigen sich die Chromosomen zu zwei zusammenhängenden gewölbten Platten, welche an die allmählich verschwindenden Polplatten herantreten. Aus den vereinigten Chromosomen entstehen die Tochterkerne durch erneute Lockerung ihres Gefüges. — Die genannte Kernteilung hat viele Ähnlichkeit mit der von mir untersuchten. Zunächst die Ansammlung feinster Chromatinkörnchen in der Äquatorialzone zwischen den beiden Kernpolen, dann die Bildung der Chromosomen durch Kondensation dieser Körnchen zu Stäbchen. Auch die Stellung der Stäbchen parallel zu den Spindelfasern ist die gleiche. Ein Unterschied besteht jedoch in der Zahl der Chromosomen, welche bei *Actinosphaerium* eine ziemlich große ist.

Da die anfangs kleinen Chromosomen sich auch bei *Actinosphaerium* nachträglich vergrößern, nimmt R. Hertwig an, daß noch Chromatinkörnchen in fein verteiltem Zustande im Plastin enthalten sind. Durch beständiges Zuströmen dieser zur ersten Anlage erklärt er ihr allmähliches Wachstum und zwar sollen sich die Körnchen auch nach seiner Meinung den Spindelfasern entlang bewegen. In ähnlicher Weise, nämlich durch Wanderung und Anlage von Chromatinkörnchen, habe ich die Entstehung und Vergrößerung der Äquatorial- und Tochterplatten zu erklären versucht. Die Teilung der Chromosomen erfolgt auch hier durch äquatoriale Einschnürung; bei *Amoeba binucleata*, deren Teilung sonst große Ähnlichkeit mit derjenigen von *Actinosphaerium* hat, sind die Chromosomen deutlich zweiteilig, so daß die Tochterchromosomen schon vor der Anordnung zur Äquatorialplatte ausgebildet sind. — Auf die von Zaubitzer (37) beschriebene Fortpflanzung einzugehen, halte ich für unnötig.

Obwohl die von mir untersuchte Kernteilung mit der von R. Hertwig (17) und anderen Autoren an Protozoen untersuchten

Kernteilungen in einzelnen Phasen große Ähnlichkeit zeigt, möchte ich doch die theoretischen Betrachtungen, welche ich an meine Untersuchungen geknüpft habe, mit allem Vorbehalt ausgesprochen haben. Infolge der Kleinheit des Objektes waren die Untersuchungen am lebenden Tier nicht möglich, ich mußte also die einzelnen Phasen aufsuchen und die angegebene Reihenfolge konstruieren Selbstverständlich habe ich dabei die einschlägige Literatur berücksichtigt. Vielleicht wird es nach weiteren Untersuchungen, wenn das Studium der Kernteilungsfrage bei Protozoen im allgemeinen mehr gefördert ist, möglich sein, ein sicheres Urteil abzugeben.

In neuerer Zeit ist endlich eine sehr interessante Arbeit von W. Loewenthal (23 a) erschienen, auf welche mich liebenswürdigerweise Herr Regierungsrat Dr. Schaudinn aufmerksam machte, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen Dank aussprechen möchte. Loewenthal hat bei *Basidiobolus lacertae* Eidam, einem Algenpilz, zwei Arten von Kernteilungen beschrieben, welche in einzelnen Phasen, wie die angeführten Protozoen, große Ähnlichkeit mit derjenigen von *A. l.* aufweisen. Da diese Kernteilungen mit den bei der sog. *A. l.* beobachteten wie gesagt viel Ähnliches bieten, wie es bei anderen Kernteilungen nicht zu beobachten ist, so erscheint es mir nicht ungeeignet, eine sehr genaue Vergleichung zwischen beiden Formen hier anzustellen, wobei ich aber ausdrücklich betonen möchte, daß ich von einer Erörterung etwaiger sonstiger Beziehungen zwischen den beiden Formen absehe, da ich für derartige Vergleiche keinerlei Unterlage habe. Aus Mangel an Untersuchungsmaterial vermochte der Autor leider keine lückenlose Serie von Kernteilungsstadien aufzustellen. Ihm fehlten einige wichtige Übergänge, so daß er bezüglich der Entstehung einiger Stadien im Unklaren ist und sich auf Vermutungen beschränken muß, welche zum Teil in meinen Untersuchungen keine Stütze finden. Der Vermutung Loewenthal's, daß die von ihm beobachteten Stadien der vegetativen und generativen Kernteilung sich vielleicht zu einer Reihe vereinigen ließen, glaube ich nicht beitreten zu können; vielmehr bin ich der Ansicht, daß allerdings zwei Modifikationen der Kernteilung zu beobachten sind, aber sowohl bei der vegetativen als auch bei der generativen. Beide Modifikationen scheinen wie die beiden von mir bei *A. l.* aufgestellten beurteilt werden zu müssen. Denn auch bei *Basidiobolus lacertae* liegt der Hauptunterschied beider Kernteilungsprozesse in der Art der Äquatorialplatte. Diese stellt nämlich einmal eine homogene Platte dar, das andere Mal ist sie in Chromosomen geteilt (Fairchild 10 a) oder bildet einen quergestreiften Ring. Diese Querstreifung muß wohl im Gegensatz zu Loewenthal's Ansicht als eine äußerst primitive Chromosomenbildung aufgefaßt werden. Ich vergleiche daher diese Art der Kernteilung, soweit sie sich auf die Teilung an und für sich, nicht auf die Verschmelzung von Tochterkernen (Kopulation) etc. bezieht, mit dem von mir zuerst geschilderten Kernteilungsprozeß (Fig. 1—16), die andere mit massiver Äquatorialplatte mit demjenigen von *A. l.*, bei dem auch hier die Chromosomenbildung unterbleibt (Fig. 1—7, 17—21, 14—16). Nachdem Fairchild (10 a) auch bei der vegetativen Teilung Chromosomen gefunden und abgebildet hat, ist es nicht angängig, die letztere als vegetative, die erstere als generative Kernteilung zu bezeichnen, wie dies Loewenthal (23 a) tut. Ich werde jedoch im folgenden, um einer Verwechselung vorzubeugen, die Ausdrücke: vegetative und gene-

rative Kernteilung im Sinne Loewenthal's (!) beibehalten. — Die mit Chromosomenbildung verlaufende Kernteilung ist wohl als eine höhere Entwicklungsform anzusehen, welche aus der einfacheren durch Differenzierung der Äquatorialplatte hervorgegangen ist. Sie erweist sich auch durch die Bildung einer „Walze" (Spindel) als die entwickeltere, denn beim Fehlen dieser hat Loewenthal stets eine massive Äquatorialplatte beobachtet.

Ein Mangel liegt darin, daß die Bildung und Funktion der Polkörper nicht erkannt wurde und infolgedessen auch die Entstehung der Äquatorialplatte falsch beurteilt ist. Ich werde versuchen, im folgenden die betr. Erörterungen zu berichtigen und zu vervollständigen, wobei ich natürlich Loewenthal's Befunde und Abbildungen als der Wirklichkeit entsprechend meinen Betrachtungen zugrunde legen muß.

Der ruhende, im Vergleich zu dem von *A. l.* große Kern von *Bas. lac.* zeigt im Zentrum ebenfalls einen Binnenkörper — das Karyosom Loewenthal's — welcher von einer schmalen, alveolären achromatischen Zone umgeben ist. Der Binnenkörper erscheint gewöhnlich als homogene Masse, läßt jedoch gelegentlich — namentlich zu Beginn der Kernteilung und im Dauerstadium — auch einen alveolären Bau erkennen. Gebildet wird er von „zwei färberisch verschiedenen Bestandteilen, die möglicherweise dem Plastin und Chromatin entsprechen", und deren Anordnung verschieden sein kann. Der Teilung geht eine Vergrößerung des Karyosoms voraus.

Bei der einfacheren Kernteilung mit massiver Äquatorialplatte, der vegetativen Loewenthal's, streckt sich der Binnenkörper zunächst in die Breite und teilt sich dann nach dem erwähnten Auftreten des alveolären Baues — wahrscheinlich in ähnlicher Weise wie bei *A. l.* — in zwei parallele Chromatinplatten, welche zunächst durch eine Alveolenreihe achromatischer Substanz getrennt werden.

Aus der Beschreibung Loewenthal's, welcher die Entstehung dieser Trennungsschicht ganz unberücksichtigt läßt, geht nicht hervor, ob diese Alveolarreihe ein Produkt des Karyosoms ist wie bei *A. l.* (Fig. 1—4), oder ob sich einfach Alveolen der achromatischen Kernzone zwischen die beiden Platten geschoben haben. Denkbar wäre jedenfalls die Bildung der Zwischenschicht aus dem Karyosom und muß sogar in Analogie zur Kernteilung von *A. l.* angenommen werden. Auch ist deutlich erkennbar, daß die entsprechende Partie: die alveoläre „Walze" bei der generativen Kernteilung Loewenthal's tatsächlich vom Karyosom geliefert wird. Wie erwähnt, nimmt das anfangs homogene Karyosom vor der Teilung einen alveolären Bau an und es ist wahrscheinlich, daß auch hier die Chromatinplatten (Polkörper) dadurch entstehen, daß das Chromatin sich nach den beiden Polen auseinanderzieht und die achromatische Substanz zurückbleibt. Hierdurch wird zunächst eine Alveolenschicht zwischen den Platten sichtbar. Während also anfangs Chromatin und Achromatin gleichmäßig im Karyosom verteilt sind, könnte auch hier die Teilung durch eine Differenzierung eingeleitet werden, deren erste Phase mit dem Auftreten des alveolären Baues beendet wäre. Alsdann würde das Chromatin in Form feinster Körnchen aus den achromatischen Alveolen auswandern und sich kappenartig den letzteren anlegen. Stammten dagegen die Alveolen der Zwischenschicht aus der Kernzone, indem sie sich vielleicht bei der äquatorialen Durchschnürung des Karyosoms zwischen die Platten geschoben hätten, so müßten letztere wohl die alveoläre Struktur beibehalten haben. Nach Loewenthal lassen sie indessen keine Struktur erkennen. Da ferner das Karyosom bei der generativen Teilung Loewenthal's ebenfalls einen alveolären Bau zeigt und hier die Polkörper offensichtlich

durch polare Wanderung und Aneinanderlagerung der Chromatinkörnchen gebildet werden, während die achromatische Substanz ohne Strukturänderung zurückbleibt (Fig. 55, 56, 57. Der alveoläre Bau ist nicht zum Ausdruck gebracht), so kann möglicherweise die alveoläre Struktur schon in der Ruhe vorhanden sein und die homogene Beschaffenheit vor der Teilung durch gleichmäßige Einlagerung feinster, stark färbbarer Chromatinkörnchen nur vorgetäuscht werden. Bei der Dauerform beschreibt ja auch Loewenthal tatsächlich einen alveolären Bau des Karyosoms (Fig. 1, 2, 7, 8, 9), die achromatische Substanz bildet alsdann bei der generativen Kernteilung ähnlich wie bei *A. l.* einen spindelförmigen Körper, die sog. „Walze“ zwischen den Polkörpern. Es ist daher wohl wahrscheinlich, daß auch bei der vegetativen Kernteilung die Trennungsschicht von der achromatischen Substanz des Karyosoms geliefert wird, um so mehr, als auch Fairchild Spindel- (und Chromosomen-) Bildung bei dieser beschreibt. Stimmen diese Angaben Fairchild's, so würde zwischen der vegetativen und generativen Kernteilung von *Bas. lac.* wie gesagt kein prinzipieller Unterschied bestehen, da sowohl hier wie dort ein spindelartiges Gebilde vorhanden sein oder fehlen kann, und dementsprechend die Äquatorialplatte massiv oder differenziert auftreten kann. Loewenthal bestreitet zwar eine Spindelbildung bei der vegetativen Kernteilung, aber wohl nur, weil er infolge Materialmangels nur die eine Form der Kernteilung beobachtet hat, während er bei seiner generativen Kernteilung zwar beide Arten beobachtet, aber irrtümlicherweise zu einer Serie vereinigt hat. Man muß daher wohl annehmen, daß, wie schon zuvor erwähnt, sowohl bei der vegetativen als auch bei der generativen Kernteilung Loewenthal's eine vollkommenere (differenzierte) und unvollkommenere Modifikation (massive Äquatorialplatte) auseinander zu halten ist.

Während also im ruhenden Kern von *A. l.* alles Chromatin und Achromatin im Binnenkörper vereinigt zu sein scheint, und der Raum zwischen diesem und der Kernmembran wahrscheinlich nur von Kernsaft angefüllt wird, vermute ich, daß die achromatische Substanz im Kern von *Bas. lac.* ein Netz innerhalb der Kernmembran bildet, dessen zentrale Alveolen (Karyosom) von Chromatin und dessen periphere von Kernsaft angefüllt sind. Ob die Alveolen des Karyosoms von denen der peripheren Kernzone verschieden sind und ob sie außer dem Chromatin noch eine andere Substanz enthalten, ist wohl anzunehmen. Diese Frage könnte jedoch nur nach einem besonderen Studium beantwortet werden.

Die beiden Chromatinplatten der Fig. 48 werden also zunächst nur durch eine Alveolenreihe voneinander getrennt. Das nächste Stadium (Fig. 49) zeigt schon zwei, so daß die Platten allmählich wie bei *A. l.* auseinanderrücken.

Zu den folgenden Stadien (Fig. 50 u. 51) fehlt Loewenthal der Übergang. Es sind dies Vierplattenstadien, welche etwa meiner Fig. 14 entsprechen. In beiden Fällen haben wir zwei von mir als Polkörper bezeichnete chromatische Gebilde und zwei noch durch eine Chromatinbrücke verbundene Tochterplatten. Ein Unterschied besteht in der Kernzone, welche sich bei *A. l.* schon geteilt hat. Letzteres Stadium ist also etwas weiter fortgeschritten. — Bezüglich der Entstehung des Vierplattenstadiums sagt Loewenthal: „Ob nun die inneren Platten denen des Zweiplattenstadiums entsprechen und die äußeren an der Kerngrenze neu entstanden oder von ihnen abgespalten worden sind, oder ob die äußeren den früheren entsprechen und die inneren aus einer zwischen ihnen aufgetretenen und nun geteilten Äquatorialplatte hervorgegangen sind, das zu entscheiden fehlen mir die Unterlagen.“ Obgleich er also hier die Möglichkeit, die beiden inneren Platten könnten als Tochterplatten einer sekundär aufgetretenen Äquatorialplatte aufgefaßt

werden, zugibt und diese Auffassung bei den analogen Stadien mit differenzierter Äquatorialplatte vertritt, läßt er diese Ansicht in seiner „Vergleichung und Deutung der Befunde“ doch wieder fallen und sucht wahrscheinlich zu machen, daß sich den beiden Binnenplatten von außen her zwei Platten anlegen, deren Chromatin aus dem Zellprotoplasma stammen soll. Weiter sagt er: „Mit Polplatten möchte ich die äußeren Platten nicht homologisieren, da sie erst nach der eigentlichen Teilung auftreten.“ Für dies spätere Auftreten bringt er aber keinen Beweis, und seiner Beschreibung und seinen Abbildungen muß man, wie ich später zeigen werde, das Gegenteil entnehmen. Aus den Betrachtungen Loewenthal's ergibt sich mithin, daß er die Entstehung seines Vierplattenstadiums nicht verstanden hat. Dies ist um so sonderbarer, da Fairchild (10a) bei der vegetativen Kernteilung ein Dreiplattenstadium abgebildet hat (l. c. Fig. 17) und auch die Binnenplatten entsprechend erklärt.

Ein derartiges Stadium, in dem also neben den Polkörpern eine Äquatorialplatte gebildet ist, muß unbedingt auch nach meinen Untersuchungen an *A. l.* vorhanden sein. Nach Loewenthal's Ansicht kann ein solches Stadium nicht existieren, denn er glaubt: „man müßte denn annehmen, daß die äußeren Platten auch schon vor Teilung des Karyosoms in die beiden inneren Platten auftreten können; dann müßte Fairchild's Äquatorialplatte dem ungeteilten Karyosom entsprechen, aber dazu ist sie zu dünn. Daß das erste Plattenpaar die äußeren Platten bilde und nun zwischen ihnen eine Chromatinmasse auftrete, mächtig genug, um die beiden inneren Platten in Fig. 50ff. zu liefern, scheint mir auch nicht recht vorstellbar. Fairchild hält die äußeren Platten für die Vereinigung der Enden der büschelförmigen Spindelfaserbündel und hebt hervor, daß diese Polplatten bei der vegetativen Teilung besonders deutlich seien.“ Nun bestreitet zwar Loewenthal, wie gesagt, eine Spindelbildung bei der vegetativen Kernteilung, und diesem Umstande entnehme ich, daß auch bei der vegetativen Kernteilung Loewenthal's zwei Teilungsprozesse auseinander zu halten sind. Den einen mit Spindel- und Chromosomenbildung hat Fairchild, den anderen ohne Spindelbildung mit massiven Binnen-(Tochter-)platten hat Loewenthal beobachtet. Ich muß allerdings erwähnen, daß das Material Loewenthal's aus dem Darm der Eidechse, während dasjenige Fairchild's vom Frosch stammte. In der Herkunft kann aber wohl nicht die Ursache dieser Verschiedenheit der Beobachtungen erblickt werden, da es sich doch wohl um eine gleiche oder ähnliche Form handelt. Nach meiner Ansicht hat die Erklärung, daß die beiden Außenplatten neu aus Chromatin des Protoplasmas gebildet würden, am wenigsten Wahrscheinlichkeit für sich. Für das Vorhandensein einer Äquatorialplatte spricht aber die Beobachtung Fairchild's, sowie Loewenthal's eigene bei seiner generativen Kernbildung. Da ich ferner eine Äquatorialplatte in einem fast gleichartig verlaufenden Teilungsprozeß gefunden habe, muß ich unbedingt Fairchild beistimmen. Letzterer kommt auch durch die Identifizierung der Chromatinansammlungen an den Spindelpolen (Polkörper) mit Polplatten meiner Ansicht erheblich näher. Mit der Entstehung der Äquatorialplatte hat er sich jedoch auch nicht beschäftigt, er konstatiert nur das Vorhandensein einer Spindel und einer großen Zahl von Chromosomen in der Äquatorialplatte. Loewenthal's Erklärung des Vierplattenstadiums dagegen kann keinen besonderen Wert beanspruchen, da, wie er selbst einsieht, ihm der Übergang zu diesem Stadium fehlt, und ich glaube daher seine anderen Theorien über die Entstehung der Binnenplatten übergehen zu können. Nach meiner Ansicht entsteht die

Äquatorialplatte auch hier aus dem Chromatin der Polkörper, wie ich dies für die generative Teilung nachweisen werde.

Polkörper und Seitenplatten werden, wie in Fig. 50 sichtbar ist, zunächst durch achromatische Alveolen voneinander getrennt und treten dann durch Chromatinfäden in Verbindung (Fig. 51). Die Verbindung wird fortschreitend inniger (Fig. 52), bis Polkörper und Tochterplatte schließlich miteinander verschmelzen. „Nach vollendeter Teilung (Fig. 54) .... besteht wieder jeder Kern aus Karyosom und scharf umgreuzter Zone wie am Anfang."

Bei der generativen Kernteilung Loewenthal's, d. h. der vollkommeneren Form von *Bas. lac.* tritt nach einer Längsstreckung des Karyosoms ebenfalls eine Differenzierung innerhalb desselben in chromatische und achromatische Substanz ein. Das hierdurch entstehende Stadium der Fig. 57 r. ist etwa meiner Fig. 4 vergleichbar, da das Chromatin auch hier in zwei polkörperartige Gebilde geteilt ist und das Achromatin eine Verbindung zwischen beiden herstellt. Die Wanderung des Chromatins erfolgt in Form kleinster Körnchen, wie aus Loewenthal's Abbildungen deutlich hervorgeht (Fig. 56, 57). Die achromatische Verbindungsbrücke wandelt sich nun in einen „walzenförmigen Körper" um der eine alveoläre Struktur erkennen läßt (Fig. 59, 62), und um den Äquator der Walze bildet sich ein chromatischer „in der Teilungsrichtung gestreift und gekörnt erscheinender Ring". Wie gesagt, geht der Bildung dieser ringförmigen Äquatorialplatte die Bildung der Polkörper voraus, denen Loewenthal keine besondere Beachtung schenkt. Er sagt bezüglich der Differenzierung im Karyosom nur: „Das Karyosom streckt sich nun in der Teilungsrichtung bedeutend in die Länge und gleichzeitig tritt eine Sonderung der beiden Substanzen ein, indem die schwach färbbare Substanz einen walzenförmigen Körper bildet, dessen Enden sich mit Eisenhämatoxylin sehr intensiv färben, während die stark färbbare (chromatische) Substanz sich als Ring in der Mitte der Walze sammelt." Loewenthal hat also nicht erkannt, daß die Fig. 57 r. der Fig. 49 seiner vegetativen Teilung entspricht. Es handelt sich hier nicht nur um eine stärkere Färbbarkeit der Walzenenden, sondern um eine kräftige Chromatinansammlung an diesen Stellen. Sonderbar ist, daß er selbst an einer anderen Stelle von einer derartigen Ansammlung an den Walzenenden spricht. Er sagt nämlich bezüglich der Fig. 57 rechts: „Das ganze Karyosom bildet hier eine schon annähernd walzenförmige, schwach gefärbte Masse, und nur nach den Enden zu .... liegt je eine Region dunkler Substanz. Die starkgefärbte Substanz an den Enden ist nicht homogen, sondern besteht aus größeren Bröckeln und Körnern, deren Ausläufer, sowie auch einzelne isolierte Partikelchen sich auch auf der übrigen Oberfläche der Walze finden können." Wie erklärt sich ferner Loewenthal diese korrespondierenden Chromatinansammlungen in Fig. 60 und 61, in denen doch nach seiner Angabe keine Walze, wohl aber drei starke Chromatinplatten, eine Binnen- und zwei Außenplatten vorhanden sind? — Meiner Meinung nach kann kein Zweifel darüber herrschen, daß die Chromatinmassen an den Walzenenden (Fig. 57, 58, 59 und 62) bzw. die Außenplatten (Fig. 60 und 61 — auch Fig. 50—53) meinen Polkörpern entsprechen und auch wie diese zuerst gebildet werden; dann tritt als sekundäre Erscheinung auch der Äquatorialring auf. Ferner ist anzunehmen, daß sich die über die Walzenoberfläche zerstreuten Chromatinkörnchen von den Polkörpern abgelöst haben und wie bei *A. l.* zur Bildung der Äquatorialplatte verwandt werden, zumal Loewenthal am lebenden Objekt ein Zuströmen des Chromatins nach der Mitte beobachtet hat,

als wenn es sich in fließender Bewegung befände, um hier ein die Breite der Walze an beiden Seiten überragendes Querband zu bilden.

„Danach teilen sich Walze wie Ring, aber unabhängig voneinander, als ob also zwei Teilungen ineinander geschachtelt wären, so daß die Teilung der Walze der des Ringes vorausgehen kann oder ihr folgen. Die Walze schnürt sich bei der Teilung unter Bildung einer Sanduhrfigur in der Mitte durch, und ihre Masse sammelt sich an den Enden als helle Kugel, deren Äquator die mit Eisenhämatoxylin intensiv färbbare Masse [NB. Polkörper!] bildet." Nach der Teilung wandern die Teilhälften der Tochterkernanlagen auseinander, wobei sich die zwischen ihnen liegenden Alveolen in die Länge strecken. Diese Teilhälften bestehen nach Loewenthal „aus dem Material eines Chromatinringes und einer Walzenhälfte". Diese Angabe ist nicht vollständig und dahin zu berichtigen, daß jede Tochterkernanlage, abgesehen von der meist nicht nachweisbaren, vielleicht aufgelösten Kernmembran, aus einem Tochterring, der halben Walze, einem Polkörper und den entsprechenden Alveolen der achromatischen Zone des Mutterkerns besteht.

„Doch kann die Teilung nach dem Auftreten von Walze und einem Ring auch noch anders ablaufen, wie aus Fig. 60 und 61 hervorgeht, die einen verhältnismäßig nicht seltenen Befund darstellen. Auch hier sieht man drei (!) färbbare Massen, dem Ring und den beiden Walzenenden entsprechend, aber die durch den Ring hindurchgehende Walze fehlt. Die mittlere Substanz ist manchmal eine kontinuierliche Platte (Fig. 61), andere Male ein Ring." Wie auch aus diesen Worten hervorgeht, hält Loewenthal diese Stadien für die Fortsetzung derjenigen mit ringförmiger Aquatorialplatte indem er annimmt, daß diese durch Zusammenfließen eine massive Platte bilden könne; ich werde sogleich hierauf zurückkommen. Aus diesen Dreiplattenstadien geht wieder ein Vierplattenstadium hervor. Dieser Vorgang hätte Loewenthal zur richtigen Erkenntnis der Binnenplatten in Fig. 50 und 51 seiner vegetativen Kernteilung führen sollen.

Ich muß nun noch einige Worte der Walze Loewenthal's widmen. Er glaubt die Frage, ob die Walze ein Teilungsorgan ist, offen lassen zu müssen und keine Homologisierung mit bekannten Bildungen vornehmen zu können. Den Vergleich mit der Zentralspindel bzw. mit den die Protistenkernteilungen leitenden Gebilden, die auf das Karyosom zurückzuführen sind (*Euglena*) oder außerhalb des Kernes liegen (*Surirella*, *Paramoeba*), wobei die stärker färbbaren Enden der „Walze" den Polplatten und dgl. an die Seite zu stellen wären, hält er „durch die Tatsachen für widerlegt, daß erstens der Chromatinring die Walze nicht immer fest anliegend umschließt und auch dann irgendwelche an ihn ansetzende Fasern nicht zu erkennen sind, und daß zweitens die Teilung des Chromatinringes der Teilung der Walze vorangehen kann oder ihr folgen." — Nun ist ja möglich, daß die „Walze", wie Loewenthal angibt, nach der Ausbildung der Äquatorialplatte allmählich verschwindet und infolgedessen in den beobachteten Stadien kein deutlicher Zusammenhang mehr besteht. Aus der Bildungsart der Äquatorialplatte, die ihm unbekannt geblieben ist, geht jedoch hervor, daß ein Zusammenhang bis zur Fertigstellung dieser unbedingt bestanden haben muß. Ich halte daher ein späteres Zusammenfließen des Ringes zu einer massiven Platte für ausgeschlossen. Aus der Zersprengung kleinster Chromatinkörnchen von den zerbröckelten Polkörpern aus über die Walzenoberfläche läßt sich wohl mit Recht folgern, daß hier die Äquatorialplatte auf gleiche Weise wie bei *A. l.* entsteht, nämlich, daß sich die Körnchen der Spindel entlang bewegen, sich in der Mitte zur Bildung der Äquatorialplatte aneinanderlegen und kondensieren. Ich habe hierfür bei Betrachtung meiner

Untersuchungen auch Belege aus anderer Literatur angeführt. Ob sich die Chromatinkörnchen besonderen Spindelfasern oder an den Wänden langgestreckter Alveolen entlang bewegen, ist für das Resultat gleichgültig. Auch folgere ich aus dem gleichen Verhalten der Chromatinmasse an den „Walzenenden“, daß sie dem Polkörper von *A. l.* identisch sind. Fände wirklich noch ein Wachstum, also ein Zusammenfließen des „Ringes“ nach der Zusammenhangstrennung von „Ring und Walze“ statt, so könnte man tatsächlich keinen Zweck für das Vorhandensein der letzteren angeben. Sie, mit anderen Worten die achromatische Substanz des Karyosoms, wäre absolut unbeteiligt. Dies ist aber nach meinen Untersuchungen nicht anzunehmen, und ich vermute daher, daß auch bei der massiven Äquatorialplatte, sowohl der vegetativen als der generativen Kernteilung die achromatische Substanz des Karyosoms die Führung der Chromatinkörnchen übernimmt, ohne daß es hier durch die Streckung der Alveolen zur Ausbildung einer „Walze“ kommt, wie Loewenthal angibt. Jedenfalls vertritt die zwischen den Polkörpern gelegene achromatische Substanz die Spindel der bekannten Kernteilungen. Natürlich haben wir es hier nicht mit einer so typischen Spindel zu tun wie bei letzteren, sondern man muß sich hierunter ein primitives Organ vorstellen, welches ihre Funktion übernommen hat. Ein Vergleich der „Walze“ mit dem Nucleolo-Centrosom“ von *Euglena* oder mit dem Nebenkörper von *Paramoeba* ist ganz ausgeschlossen. Diese sind höchstens mit dem Centrosom zu vergleichen.

Gegen Ende der Kernteilung (Fig. 64 u. 65) liegen wieder an jedem Pol der Teilungsfigur zwei gefärbte Gebilde, welche durch einen hellen Streifen voneinander getrennt werden und sich im weiteren Verlauf zu Tochterkaryosomen vereinigen. Die Ausbildung der achromatischen Kernzone hat Loewenthal nicht beobachten können. Die beiden genannten Gebilde bestehen natürlich auch hier wieder aus einem Polkörper mit der zugehörigen Tochterplatte. Beide sind färbbar, die zwischen ihnen verlaufende Trennungslinie ist als Rest der zugehörigen Walzenhälfte aufzufassen. Daß erstere aus Chromatin bestehen, unterliegt bei der vegetativen Kernteilung Loewenthal's keiner Frage, denn sie nehmen hier die Farbe „mit gleicher Intensität“ an. Bei der generativen dagegen beobachtete Loewenthal ein verschiedenes Verhalten den Farbstoffen gegenüber. „Mit Eisenhämatoxylin färben sich die äußeren, einander abgewandten Platten intensiv, die inneren blasser; bei Anwendung von Hämatoxylin gerade umgekehrt, das äußere blaß und das innere dunkel, oder beide Paare gleich stark.“ Die Äquatorialplatte entspricht in dieser Hinsicht den Binnenplatten. Welche Ursache hier die verschiedene Färbbarkeit bedingt, ist mir nicht klar, vielleicht wird sie durch eine verschiedene Strukturdichte der Platten bedingt. — Einer der Tochterkerne schnürt sich nun mit einer gewissen Protoplasmaregion analog der Richtungskörperbildung ab und geht später zugrunde, während sich die andere Tochterzelle mit einer entsprechenden benachbarten unter Verschmelzung der Kerne zu einer Zygote vereinigt.

Aus der vorhergehenden Betrachtung folgt ohne weiteres die große Ähnlichkeit einerseits zwischen der vegetativen und generativen Kernteilung von *Bas. lac.* — und zwar mehr als sie Loewenthal zum Ausdruck zu bringen vermochte — und andererseits zwischen diesen beiden und derjenigen von *A. l.* Da ich bei letzterer zwei nebeneinander vorkommende Kernteilungen lückenlos beobachtet habe, äußerte ich meine Ansicht bezg. *Bas. lac.* dahin, daß die Kernteilungen mit massiver und differenzierter Äquatorialplatte (Chromosomenbildung) auseinander zu halten sind. Weiterhin vermute ich infolge Fairchild's Untersuchungen an *Basidiobolus ranarum*,

daß auch bei der vegetativen Teilung diese beiden Modifikationen vorkommen. Mit der Ausbildung einer primitiven Spindel (Walze) scheint die Ausbildung von Chromosomen verbunden zu sein, da hier die bildenden Chromatinkörnchen nur über die Oberfläche zu wandern vermögen, während bei der massiven Äquatorialplatte die Formveränderung des achromatischen Karyosoms durch starke Längsstreckung der Alveolen unterblieben ist, so daß die Körnchen von Alveole zu Alveole wandern könnten. Vielleicht läßt sich so das Zustandekommen der massiven Äquatorialplatte erklären.

Da der Verdacht immer wieder auftaucht, *A. l.* möchte in Wirklichkeit eine „Myxamöbe" sein und die Zugehörigkeit zu den Myxomyceten von Anfang meiner Untersuchungen an ins Auge gefaßt wurde, so liegt eine Vergleichung mit deren Kernteilungen ganz besonders nahe, aber freilich gibt das, was mir darüber bekannt wurde, keine rechten Anhaltspunkte. In der unlängst erschienenen Monographie der *Acrasieae* von Olive (24 a) haben die Kernteilungsvorgänge dieser mit den Myxomyceten nahe verwandten Organismen wohl eine gewisse Berücksichtigung erfahren, jedoch sind sie nicht so eingehender Natur, daß sie mit denen von *A. l.* in nähere Beziehung gesetzt werden könnten. Die in Frage kommenden Abbildungen (Fig. 55—60) lassen wohl erkennen, daß auch bei diesen Formen eine indirekte Kernteilung vorkommt (Chromosomenbildung) aber weitere cytologische Einzelheiten, wie die Bildung von Polkörpern etc., sind nicht zu bemerken. Es lag wohl auch kaum im Plan dieser Monographie, den Kernteilungsprozessen jene eingehende Berücksichtigung zuteil werden zu lassen, wie denen von *A. l.*

Eine in diesem Jahre veröffentlichte Arbeit von E. Jahn (18 a) über einen Myxomyceten, *Stemonitis flaccida*, welche eine sehr eingehende Darstellung der Kernteilung bei den Schwärmern gibt, zeigt uns diese als eine echte, von dem gewöhnlichen Verhalten kaum irgendwie abweichende karyokinetische Teilung, so daß also in dieser Hinsicht Vergleichspunkte zwischen der von mir beobachteten *A. l.* und den Myxomyceten nicht vorhanden sind.

V. Die Züchtung auf künstlichen Nährböden.

1. Nährböden.

Mit der Züchtung von Amöben auf künstlichen Nährböden hat sich bereits eine ganze Anzahl Forscher beschäftigt. Die hierzu verwandten Nährböden waren meist nach eigener Methode zusammengesetzt, denn es ergab sich bald aus den Versuchen, daß eine Züchtung auf den gewöhnlichen, in der Bakteriologie gebräuchlichen, im allgemeinen keine günstigen Resultate lieferte. Diese Untersuchungen sind in der großen Mehrzahl von Medizinern angestellt worden, da es namentlich für diese ein praktisches Interesse hatte, über die vielumstrittene Pathogenität gewisser parasitärer Amöben, im speziellen der *Dysenterieamöbe* auf experimentellem Wege Aufschluß zu erhalten. Ein reichliches Versuchsmaterial würde diese Frage sicherlich bald entschieden haben, wenn die Züchtungen der *Amoeba coli* von Erfolg

begleitet gewesen wären. Alle Versuche, bei welchen die Züchtung dieser Amöbe angeblich gelang, beruhen wahrscheinlich auf Verwechselung mit anderen Amöben. Man muß demnach die Möglichkeit *Amoeba coli* auf künstlichen Nährböden züchten zu können, vorläufig als nicht sehr wahrscheinlich betrachten. — Die Amöbenzüchtungen könnten vielleicht auch für den Zoologen insofern von Nutzen sein, um den Entwicklungsgang gewisser Amöben kennen zu lernen, und diese Erwägung bestimmte mich namentlich zur Vornahme meiner Versuche.

Im folgenden habe ich zunächst versucht, eine kurze Übersicht über diejenigen Züchtungsarbeiten, welche mir im Original oder als Referate vorlagen, zu geben. Ich hielt diese Angabe für nötig, weil ich anderenfalls zu oft auf die älteren Versuche hätte hinweisen müssen und dadurch die Einheitlichkeit meiner Arbeit gestört worden wäre. Auch wird durch diesen kurzen Überblick die Möglichkeit geboten, sich an der Hand älterer Züchtungsversuche von der Richtigkeit meiner später vertretenen Ansichten zu überzeugen.

a) Untersuchungen anderer Autoren.

Balsamo-Crivelli und Maggi (2) gelang die Züchtung einer Amöbe, welche sie *Autoamoeba albuminis* nannten auf Eiweiß mit oder ohne Zusatz von 1 ‱—1 ‰iger Karbolsäure. Rina Monti (2) wiederholte diese Versuche und benutzte als Nährboden eine Lösung von zwei Teilen Eiweiß in einem Teil destilliertem Wasser oder von zwei Teilen Eiweiß in einem Teil durch 1 ‰ige Karbolsäure angesäuertem Wasser. Sie züchtete außer *Autoamoeba albuminis* noch andere Amöben, unter welchen sich auch *Amoeba vulgaris* befand.

Wenn schon die Züchtung auf einem mit Karbolsäure in genannter Konzentration angesetzten Nährboden gelungen sein mag, so darf man hieraus doch nicht eine allgemein gültige Regel aufstellen. Eine Ansäuerung ist überhaupt nicht zu empfehlen. In diesen Fällen würden die Versuche auch nur beweisen, daß ein geringer Säurezusatz nicht gerade schädlich auf die Amöbenentwicklung einwirkt, zumal man annehmen muß, daß die geringe Säuremenge durch die im Eiweiß enthaltenen Salze wahrscheinlich neutralisiert wurde.

„D. D. Cunningham züchtete“, nach A. Schuberg (34) „die Amöben anfangs in der alkalischen Flüssigkeit der Choleraexkrete, später dagegen in einem Aufguß von Kuhdünger, wobei er besonders bemerkenswerte Resultate erzielte. Diese Resultate bestehen darin, daß die Amöben des menschlichen Darmes nicht nur mit denjenigen,

welche im Darm von Säugetieren (Kühe und Pferde) von ihm beobachtet wurden, identisch seien, sondern daß alle diese Formen weiterhin mit den an den gleichen Orten vorkommenden Flagellatenarten in ein und denselben Entwicklungskreis hineingehörten." Die letzte Bemerkung wird man von vornherein für sehr unwahrscheinlich halten. Die gezüchtete Amöbe sollte aus dysenterischem menschlichen Stuhl stammen. Kruse und Pasquale (21), Grassi (21) etc. sprechen diesen Untersuchungen jeden Wert ab, weil Cunningham (34) ihnen ein unreines Ausgangsmaterial zugrunde legte. Die von Grassi (21) angestellten Kontrollversuche verliefen zudem sämtlich negativ.

Kartulis (19) züchtete ebenfalls angeblich *Dysenterieamöben*, es wurde ihm jedoch namentlich von Kruse und Pasquale (21) nachgewiesen, daß es sich um *Strohamöben* handelte. Sie wiederlegten seine Ergebnisse anf Grund einer ihnen vom Antor selbst überlassenen Probekultur. Die Sporen Kartulis (19) waren encystierte Amöben. Die Züchtungen gelangen nur in offenen Gefäßen, so daß kein Zweifel darüber herrscht, daß die Amöben nachträglich als Cysten in die Gefäße gelangten. Die Züchtungen waren erfolgreich in Verdünnungen von Kaninchen- und Taubenausleerungen mit sterilem Wasser. Die stärkste Entwicklung fand bei 30—38° statt, unter 20° will Kartulis (19) kein Wachstum beobachtet haben. Später verwandte dieser Autor zu seinen Züchtungen eine Abkochung von 20—30 g Stroh auf 2 Ltr Wasser. Obgleich er die Abkochungen filtrierte und sterilisierte, bildete sich doch eine Kahmhant an der Oberfläche der Flüssigkeit, weil er zu seinen Impfungen frisch entleerten, dysenterischen Stuhl verwandte und dadurch seine vorher sterilisierte Nährlösnng mit einem gänzlich unkontrollierbarem Material verunreinigte. Die Züchtungen gelangen auch in offenen Gefäßen bei Znsatz von neutraler oder leicht alkalischer Bouillon zur Strohabkochnng; solche in Fleischwasser, flüssigem Blutserum und flüssiger Gelatine schlugen fehl.

Kruse und Pasquale (21) haben die im Stroh enthaltenen Amöben gezüchtet und zwar, indem sie zunächst zerkleinertes mit Wasser übergossenes Stroh in den Brutofen stellten. Später verwandten sie noch folgende Lösungen: Strohinfus von verschiedener Konzentration, verschiedenen Strohsorten und verschiedener Reaktion, auch fügten sie Bouillon oder Serum zu der Strohabkochung. In ähnlicher Weise modifizierten sie die Infuse von Pferde- und Kuhmist. Ferner benutzten sie einfaches Nielwasser, allein oder unter Zufügung von Nährstoffen in verschiedener Konzentration, wie

Bouillon, Serum vom Rinde, Ascites- und Hydrocelenflüssigkeit und rotes Blut vom Menschen. — Die den dysenterischen Fäces entnommenen Amöben vermochten nicht auf diesen Nährböden zu gedeihen, dagegen gelang die Züchtung der *Strohamöben* „fast in allen“. Die Untersuchungen von Kruse und Pasquale scheinen mir einwandfrei zu sein.

C. O. Miller (24) legte Kulturen mit Amöben, Plasmodien und Infusorien in Erlenmeyer'schen Gläsern an. Die Züchtung gelang nur mit Bakterien. Als Infusionen wurden verwendet: Hanfaufguß, verdünnt bis zur Weißweinfarbe; neutralisierte Bouillon, wie sie zur Darstellung der Nährgelatine benutzt wird, 2—4 Teile auf 100 Teile Wasser, $\frac{1}{2}$ % Glycerin mit einem kleinen Stück Sehne; verdünnter Henaufguß mit $\frac{1}{2}$ % Traubenzucker oder $\frac{1}{5}$ % Milch. Verdünnte Lösungen gaben bessere Resultate als konzentriertere. Die Kulturen gediehen bei 37° C, manche wurden bis 25 mal umgepflanzt.

W. M. Beyerinck (3) hatte gefunden, daß das *Nitritferment* der Ammonsalze sich auf gewissen Nährböden züchten lasse und jedesmal, wenn er Erde aus Delf mit Wasser verrieb und auf die Nährböden goß, entwickelte sich gleichzeitig eine sporenbildende Erdamöbe, die von ihm benannte *Amoeba nitrophila*. Sein Agarnährboden wurde auf folgende, ziemlich komplizierte Weise dargestellt: In destilliertem Wasser gelöster und filtrierter Agar wird wieder zum Erstarren gebracht und mit destilliertem Wasser ausgelangt, alsdann wird die Masse mit den notwendigen Salzen versehen und sterilisiert. Die zugefügten Salze sind präzipitiertes Calciumcarbonat und zum Zweck der Nitritbildung das Phosphorsalz: ($NH_4NaHPO_4 + 4H_2O$) bis 0,5 %, am besten 0,2 %, ferner 0,5 % Chlorkalium. Die Kreide erhält die Reaktion neutral oder schwach alkalisch. — Ein anderer für die Nitrifikationsversuche benutzter Nährboden (Kieselplatten), dessen Zusammensetzung ebenfalls sehr kompliziert ist, war auch zur Züchtung von *Amoeba nitrophila* geeignet. Diese Amöbe ist durchaus nicht an die Gegenwart der Nitritbildner gebunden, wie man nach der Bezeichnung annehmen könnte, und vermag in ihrem Innern 1—3 Sporen zu bilden.

Eine andere Amöbe: *Amoeba zymophila*, welche Beyerinck (2) in gärenden Trauben fand, und welche ebenfalls von ihm gezüchtet wurde, hielt er für identisch mit *Amoeba coli* Loesch. Casagrandi und Barbagallo (6) schließen diese Identität jedoch aus. Die Züchtung gelang mit *Saccharomyces apiculatus* (Pilz), mit *Essigbakterien* und *Bact. coli commune* auf Malzgelatineplatten, Nährgelatine und Nähragar.

In betreff der flüssigen Nährböden hat Beyerinck (3) ähnliche

Beobachtungen gemacht wie ich. Er fand auch, daß Nährflüssigkeiten sich nur dann zur Kultivierung eignen, wenn sich an der Oberfläche eine Kahmhaut bildet, in der sich die Amöben ansiedeln können. — Gelatine wurde selbst bei Gegenwart von *Apiculatus* verflüssigt, der verflüssigte Nährboden war jedoch nicht imstande die Amöben zu ernähren.

C. Gorini (14) erhielt *Amoeba zymophila* von Beyerinck in Kultur und züchtete sie unter anderem auch mit *Saccharomyces apiculatus* auf Kartoffeln ohne Alkalinisierung.

Celli und Fiocca (7) haben verschiedene Nährböden zur Züchtung der Amöben benutzt, Erfolg hatten sie auf alkalinisierten Kartoffeln, auf Ascitesflüssigkeit, auf Eiereiweiß. Am günstigsten war ein Nährboden, welcher aus *Fucus crispus* (5 %) und Wasser, mit oder ohne Bouillon hergestellt wurde, aber stets alkalisiert war. Gezüchtet wurden: *Amoeba guttula, oblonga, undulans, coli* (?), *spinosa, diaphana, vermicularis* und *arborescens*. Da jedoch die Entwicklung der Amöben stets an die Gegenwart von Bakterien gebunden war, halten sie die „Symbiose" zwischen diesen beiden Arten von Organismen für „sehr intim". Auf den unrichtigen Ausdruck: Symbiose werde ich an anderer Stelle zurückkommen.

Franz Schardinger (26) benutzte mit Erfolg Nährgelatine, Heuaufguß und Heuinfusagar, ohne Erfolg Glycerinpeptonagar. Er impfte Kot von einem an fieberhafter Diarrhöe Erkrankten — es ist bezeichnend, daß in dem Kot keine Amöben mikroskopisch nachzuweisen waren — auf die Nährböden und glaubt daher *Amoeba coli* gezüchtet zu haben. Wachstum erfolgte bei Bruttemperatur. Die Züchtungen sind nach Casagrandi und Barbagallo (6) nicht einwandfrei. Die Zusammensetzung des empfohlenen Heuagars war folgende: „30—40 g Heu oder Stroh werden mit 1 l Wasser aufgekocht, dem Filtrate gibt man 1—1 ½ % Agar zu, kocht bis zur Lösung des letzteren, fügt Na_2CO_3 bis zur alkalischen Reaktion zu und füllt ohne vorherige Filtration in Eprouvetten". Ein Wechsel der Nährböden ist vorteilhaft. — In seinem Nachtrag ist folgende Zusammensetzung empfohlen: ca. 30 g Heu werden in 1 l Wasser suspendiert, 1—1,5 g gepulvertes Kalkhydrat zugesetzt und das Ganze 24—36 Stunden in den Brutofen gestellt. Der Kalk wird durch Phosphorsäure gefällt und die filtrierte Flüssigkeit eventuell mit Fleischwasser zu gleichen Teilen gemengt, mit Soda alkalisiert und mit 1—1 ½ % Agar weiter verarbeitet. Diese Herstellung eignet sich auch für Gelatinekulturen, jedoch ist hier ein Ausfällen des Kalkes unnötig.

F. Fajardo (11) vermochte bei dysenterischen Darmerkrankungen und im Eiter zweier Leberabszesse dieselbe Amöbe festzustellen. Züchtungen in sterilem Strohinfus, dem Bouillon zugesetzt war, sowie auf Agar-Agar und Glycerinagar bei 37° oder bei Zimmertemperatur waren erfolglos. Züchtungen von *Strohamöben* in nicht sterilem Strohinfus gelangen.

O. Casagrandi und G. Barbagallo (6) verwendeten die verschiedensten Nährböden: a) flüssige. Infusionen von Heu und Stroh, Dekokte von Fäces (Cunningham), Hanfinfus, nicht erstarrtes und verdünntes Eiereiweiß (Monti etc.). Wegen der Unreinheit des Impfmaterials und der schweren Sterilisation der Infusionen war in der Mehrzahl der Fälle keine absolute Isolierung von anderen Protozoen, Pilzen etc. möglich. — b) feste. Aus genanntem Grunde sind auch alle mittels Aufgüssen dargestellte feste Nährböden mangelhaft. Sie sind für die Entwicklung der Bakterien so außerordentlich geeignet, daß es nicht gelingen wollte eine absolut reine Amöbenkultur zu erzielen. Dagegen läßt der Fucus crispus in einer Stärke von 5% (Celli und Fiocca) (7), namentlich, wenn er stark alkalisch gemacht ist, nur eine schwache Bakterienentwicklung zu und ist aus diesem Grunde allen anderen vorzuziehen. In der Regel ist ein alkalisches Medium notwendig, doch findet man auch häufig Amöben auf Substraten von neutraler, ja sogar saurer Reaktion.

Die Verfasser züchteten *Amoeba spinosa, guttula, oblonga, viridis* (sp. nova?), *foliata* (sp. nova?), *nudosa, diffluens, arborescens, gracilis. Amoeba guttula* und *spinosa* auch bei Einimpfung von Bierhefen auf Gipsblöcken. *Stroh-* und *Heuamöben* ließen sich aus normalem und diarrhöeischen Stühlen züchten. Da eine Kultivierung von *Amoeba coli* und *blattarum* dagegen nicht gelang, kommen sie zu dem Schluß, daß nur freilebende, mit kontraktiler Vakuole ausgestattete Amöben und zwar auf einer Anzahl von Nährböden gezüchtet werden können.

Die von P. Frosch (13) kultivierten Amöben stammten aus Gartenerde; bei Körpertemperatur erfolgte kein Absterben, jedoch auch keine Entwicklung, bei Sauerstoffabschluß bildeten sich verkümmerte Formen. Das Wachstum ist ausschließlich an das Vorhandensein von Bakterien gebunden, eine absolute Reinkultur läßt sich also nicht anlegen. Die Bakterienarten üben einen verschieden günstigen Einfluß auf die Entwicklung der benutzten Amöbenspezies aus, manche sind gänzlich unbrauchbar, immer jedoch sind lebende Bakterien erforderlich. — Zu Nährböden dienten: Fucus crispus, Beyerinck'scher (3) Agar für Nitritbildner, Würzegelatine, Heuinfus-

agar nach Schardinger (26), Kartoffeln, Kohlrüben, Runkelrübenscheiben, pflanzliche Abkochungen und Lösungen aller Art. Sehr geeignet war: 1/2 g Agar, 90 g Leitungswasser, 10 g gewöhnliche alkalische Bouillon.

T. Tsujitani (35) züchtete drei Arten von Amöben, welche sich bei Zimmertemperatur, besser jedoch bei Körpertemperatur entwickelten. Als Nahrung bot er ihnen *Typhusbazillen*, *Bac. coli communis*, *Bac. fluoresc. liq.*, *Bac. fluoresc. non liq.*, *Staphylococcus pyog. aur.*, *Bac. pyocyan.*, *Bac. ruber*, drei Arten *Bazillen aus Heuinfus* und ein *Mikrokokkus aus der Luft*. Alle lieferten gleiche Resultate. *Milzbrandbazillen* und *Hefe* waren nicht geeignet. Dagegen war nicht erforderlich, daß genannte Bazillen in lebendem Zustand vorhanden waren, vielmehr dienten auch abgetötete Bazillen als Nährmaterial, jedoch ist dann die Entwicklung im allgemeinen weniger stark, bei einer Bazillenart war sie üppiger. — Seine Nährböden hatten folgende Zusammensetzung: a) feingeschnittenes Stroh 30 g, Gigartina polifera (Tsunomata) 10 g, Wasser 1000 g. b) Agar 1—1,5 g Nährbouillon 20 g, Wasser 80 g. Sie wurden filtriert, alkalisiert und sterilisiert.

R. Behla (2) empfiehlt 25 g Flachsstengel mit 1 l Wasser 24 Stunden stehen zu lassen, den Auszug zu filtrieren, 1 % Agar und Na_2CO_3 bis zur alkalischen Reaktion zuzusetzen und schließlich eine Stunde lang zu sterilisieren. Er züchtete *Amoeba spinosa*, *oblonga* etc.

Es sind nun noch die recht ausgedehnten Züchtungsversuche Zaubitzers (37) zu erwähnen. Er benutzte: Peptonwasser (1,0 Pepton, 0,5 NaCl, 100,0 Wasser); Infus von Heu oder Stroh (30—40 g auf 1 l Wasser); Katzen-, Hunde- und Menschenblutwasser; Heyden-Wasser (Nährstoff Heyden 0,5—1,0, Wasser 100,0); Somatoselösung (2,5 %); Somatose-Peptonwasser (Somatose 0,5—1,0, Pepton 0,5—1,0, Wasser 100,0). Ungeeignet waren Milch- und Nutrosewasser, Zusatz von Bouillon oder Fleischextrakt und Wasser mit Fischblut, ferner Kartoffeln und Eiereiweiß. Von festen Nährböden erwiesen sich als brauchbar: Koch'sche Gelatine (1 Pfd. Fleisch auf 1 l Wasser, Pepton 10,0, NaCl 5,0, Gelatine 100—120,0), sie wird durch Amöben und Bakterien verflüssigt, auch wenn letztere allein nicht dazu imstande sind. Koch'scher Agar: 1 Pfd. Fleisch auf 1 l Wasser, Pepton 10,0, NaCl 5,0, Agar 15,0—20); Glycerinagar (1 Pfd. Fleisch auf 1 l Wasser, Pepton 10,0, NaCl 5,0, Agar 15,0—20,0, Glycerin 30,0—40,0); erstarrtes Blutserum; 0,5—1,0 % Heyden-, 2,0—2,5 % Somatose- und 1,0 % Nutrose-Agar (Agar 1,5—2,0 %); Fucus crispus

2,5—5,0 %. Die *Strohamöbe* konnte nicht in Reinkultur gezüchtet werden, so daß ZAUBITZER (37) ebenfalls an eine „Symbiose“ zwischen seiner Amöbe und den Bakterien glaubt. Zu Nährmaterial dienten neben einer unbenannten Bakterienart: „*Bact. coli, Vibrio cholerae as., Bac. fluorescens non liq., Megatherium* und *Typhus.*“

b) Eigene Untersuchungen.

Aus den Untersuchungen der genannten Autoren ergibt sich mit Bestimmtheit, daß:

1. eine Anzahl von Nährböden zur Anlage von Amöbenkulturen geeignet sind,
2. eine bestimmte Reaktion erforderlich ist und
3. die Züchtung nur in Gegenwart von Bakterien gelingt.

Die Zahl der zur Züchtung geeigneten Kulturböden ist ziemlich groß, und man kann sagen, daß bis auf wenige Ausnahmen fast alle zur Verwendung gelangten Substrate tauglich waren. Trotzdem haben sich die Autoren immer wieder bemüht, neue Nährböden für die Amöben ausfindig zu machen, weil sie auf deren Zusammensetzung einen viel zu großen Wert legten. Teilweise war natürlich auch der Gedanke maßgebend, einen Nährboden zu bilden, welcher an sich imstande wäre, den Amöben die erforderliche Nahrung zu liefern, also die Amöben in Reinkultur zu erhalten.

Bezüglich der Reaktion der Kulturböden war festgestellt, daß ein neutrales bis schwach alkalisches Medium im allgemeinen das geeignetste war, jedoch gaben auch in einzelnen Fällen Versuche bei saurer Reaktion günstige Erfolge.

Weiterhin hat sich die Möglichkeit, Amöben in Reinkultur züchten zu können, als nicht ausführbar herausgestellt. Die Aussichtslosigkeit der in dieser Richtung angestellten Versuche ist namentlich von FROSCH (13), TSUJITANI (35) und ZAUBITZER (37) erwiesen worden. Die Amöben sind Tiere und als solche, wie alle anderen Protozoen, ihrer Körperbeschaffenheit nach auf feste Nahrung angewiesen. Eine Ernährung auf osmotischem Wege ist vollständig ausgeschlossen. Auf diese Weise können nur Flüssigkeiten und mit diesen vielleicht die darin gelösten Salze aufgenommen werden. Zur Erklärung einer derartigen Salzaufnahme müßte jedoch nach meiner Ansicht schon eine aktive Beteiligung des Protoplasmas angenommen werden. Es kommt noch in Betracht, daß mit jedem festen Körper gleichzeitig eine gewisse Flüssigkeitsmenge und mit dieser natürlich auch die darin gelösten Salze, Eiweißkörper und

Kohlehydrate aufgenommen werden. Abgesehen von dieser geringfügigen Menge muß also den Amöben ihre Nahrung in organisierter Form dargeboten werden, und hierzu eignen sich, namentlich wegen ihrer leichten Züchtung, Bakterien. Diese Nahrung entspricht auch durchaus den natürlichen Verhältnissen.

Die große Zahl der „verfütterten" Bakterienarten beweist ferner, daß der Art an und für sich keine besondere Bedeutung beizumessen ist. Es erweisen sich selbst solche Bakterien als tauglich, welche, wie man annehmen kann, den Amöben im Freien gewöhnlich nicht zur Verfügung stehen. Ein gewisser Einfluß der Bakterienart ist jedoch auch nicht zu verkennen. Frosch (13) hat beobachtet, daß eine Bakterienart sich nicht zur Ernährung der Amöben eignete, während gewisse Arten mehr als andere die Entwicklung ihrer Kulturen begünstigte.

Die Angaben der Autoren inbetreff der Züchtungstemperatur gehen sehr auseinander.

Unter den vielen gezüchteten Amöben befand sich auch, wie schon in der Einleitung bemerkt, die von mir untersuchte und kultivierte Amöbe. Als *Stroh-* oder *Heuamöbe* ist sie außer von Zaubitzer (37) auch schon von anderen Forschern wissentlich oder irrtümlicherweise als *Amoeba coli* gezüchtet worden, worüber die angeführte Literatur Auskunft gibt. Zaubitzer (37) sind die hierauf bezüglichen Angaben entgangen. Über die Möglichkeit, *Amoeba limax* auf künstlichen Nährböden züchten zu können, war ich also nicht im Zweifel. Aus diesem Grunde stellte ich meine Untersuchungen auch nicht an, für mich waren folgende Momente maßgebend. Es galt:

1. *A. l.* in Kulturen zu erhalten, welche von anderen Protozoen vollständig frei waren, um folgende Fragen zu entscheiden.

2. Ist *A. l.* eine konstante Form oder ein Entwicklungsstadium eines tierischen oder pflanzlichen Organismus?

3. Unter welchen Bedingungen sind die Kulturböden zur Züchtung von *A. l.* geeignet?

4. Hat die veränderte Lebensweise auf Entwicklung und Körperform der *A. l.* einen Einfluß?

Die Beantwortung dieser Fragen überlasse ich dem folgenden Kapitel. —

Bei der Herstellung meiner flüssigen und festen Nährböden bin ich in bezug auf ihre Sterilisation mit der größten Sorgfalt zu Werk gegangen. Sämtliche Nährböden wurden zunächst mit Ausnahme des aus Fucus crispus dargestellten filtriert und dann

nach Abfüllung derselben in den betreffenden Gefäßen an drei auf einander folgenden Tagen durch je 20 Minuten lange Erhitzung auf 100° C im Dampftopf sterilisiert. Für die Züchtungen in Nährflüssigkeiten wurden Erlenmeyer'sche Flaschen von 150 cbcm Inhalt und etwa 1,5—2 cm hohen Füllung, für feste Nährböden Reagenzgläser und Petrischalen benutzt. — Zur Ernährung der Amöben dienten *Bac. subtilis, alvei, tumescens* und *asterosperus*.

Meine Züchtungen in flüssigen Nährböden waren von wenig Glück begünstigt. Verwendung fanden namentlich Aufgüsse und Abkochungen verschiedener Stroharten, rein oder mit einem Zusatz von Nährstoffen, ebenso Leitungswasser mit einem Zusatz von Nährstoffen.

1. Strohinfus: 25 g zerkleinertes Stroh auf 1 l Leitungswasser.
2. Strohdekokt von gleicher Zusammensetzuug oder verdünnt bis zur Weißweinfarbe.
3. Heyden-Wasser: Nährstoff Heyden 2,0, Leitungswasser 100,0.
4. Peptonwasser 2%ig.
5. Somatosewasser 2%ig.
6. Nutrosewasser 2%ig.
7. 3—6 unter Zusatz von Zucker.
8. 3—6 unter Zusatz von Kartoffelstärke.

In genannten Flüssigkeiten vermochten sich die Bakterien nur schlecht zu entwickeln, sie sanken nach Ablauf ihres Entwicklungscyklus zu Boden und bildeten hier einen Niederschlag. Die Amöben aber, welche an der Oberfläche leben, fanden keine genügende Nahrung vor und zeigten infolgedessen ebenfalls nur eine mäßige Vermehrung. Günstiger lagen die Verhältnisse etwas, wenn man den Nährlösungen Agar oder Fucus crispus zusetzte.

Es ist wohl zu beachten, daß ich, wie eingangs erwähnt, die zu benutzenden Flüssigkeiten filtrierte und sterilisierte. Das Impfmaterial entnahm ich festen Nährböden, welche Bakterien bzw. Amöben mit derselben Bakterienart in Reinkultur enthielten. Auf diese Weise wurde eine nachträgliche Verunreinigung der Nährböden mit anderen Organismen tierischer und pflanzlicher Natur vermieden. Legt man keinen Wert auf ein reines Ausgangsmaterial, so werden zwar den Amöben durch Bildung einer Kahmhaut günstigere Lebensbedingungen geboten, aber die Kulturen sind alsdann auch dem Ausgangsmaterial entsprechend mit den verschiedensten pflanzlichen und tierischen Organismen verunreinigt, welche in ihrem Entwicklungskreis ein amöboides Stadium aufweisen können. Solche verunreinigte Kulturen haben vielfach zu Irrtümern geführt.

Die festen Nährböden verdienen in jeder Beziehung den Vorzug vor den flüssigen. Die auf der Oberfläche gebildeten Bakterienrasen ersetzen gewissermaßen die auf flüssigen Nährböden erforder-

liche Kahmhaut, so daß den Amöben reichlich Sauerstoff, Nahrung und auch Feuchtigkeit gleichzeitig zur Verfügung steht. Die von mir verwandten Nährböden sind in der Mehrzahl schon von anderen Autoren benutzt worden. Ich habe jedoch auch einige Nährböden mit ganz anderer Zusammensetzung als die angegebenen verwertet. Dies geschah nicht, um einen besseren oder gar spezifischen Nährboden für Amöben aufzufinden, sondern um die von mir gemachte Beobachtung, daß die Nährböden keinen direkten Einfluß auf die Amöbenentwicklung haben, zu kräftigen. — Ich benutzte

1. Nährstoff Heyden	1—2,0	2. Somatose	1—2,0
Agar	1,5	Agar	1,5
Leitungswasser	100,0	Leitungswasser	100,0
3. Nutrose	1—2,0	4. Pepton Witte	1—2,0
Agar	1,5	Agar	1,5
Leitungswasser	100,1	Leitungswasser	100,0
5. Agar	1,5		
Leitungswasser	100,0		

6. Dieselben Nährböden mit Strohdekokt, welcher bis zur Weißweinfarbe verdünnt war, an Stelle des Leitungswassers.
7. Fucus crispus 5,0
   Leitungswasser 100,0
8. Stärkekleister von der Konsistenz des Agars.

Um auf den festen Nährböden eine allzu starke Bakterienentwicklung zu verhindern, aber trotzdem eine gleichmäßige Verteilung der Kolonien über die ganze schräge Oberfläche zu erhalten, brachte ich eine Öse der betr. Bakterienart in das Kondensationswasser und bespülte alsdann hiermit die Oberfläche des Nährbodens. Bei der Züchtung in Petrischalen, welche ich übrigens nur verwandte, um die Entwicklung der Amöben unter dem Mikroskop beurteilen zu können, verfuhr ich anders. Ich impfte in diesen Fällen eine erforderliche sterile Wassermenge mit Bakterien und bespülte alsdann mit dieser die Oberfläche. Das überflüssige Wasser wurde abgegossen. Um das Austrocknen und die Verunreinigung dieser Schalen möglichst zu vermeiden, drehte ich sie um, so daß sich der Nährboden oben befand. Darauf wurden die Bakterienkulturen einen Tag lang in den Thermostaten gestellt oder bei einer Temperatur von 18—20° C im Zimmer gehalten. Die Entwicklung der Bakterien ist nun je nach der Zusammensetzung des Nährbodens eine verschiedene, sie genügt aber meist schon nach 24 Stunden zur Ernährung der Amöben.

Nach dieser Zeit wird aus der Kahmhaut eines gewöhnlichen, nicht sterilisierten Strohaufgusses, in welchem *A. l.* zahlreich vertreten ist, eine geringe Menge in das Kondensationswasser des festen Nährbodens geimpft. In diesem tritt alsdann dem Impfmaterial entsprechend eine Vermehrung der darin enthaltenen Protozoen, Bakterien, Pilze etc. auf, aber diese bleiben längere Zeit auf das Kondensationswasser beschränkt, während die Amöben sogleich auf der schrägen Oberfläche des Nährbodens hinaufkriechen. Von diesen ersten Kulturen entnimmt man

nach 2—3 Tagen das Impfmaterial für die folgenden, und zwar stets an einer möglichst hochgelegenen Stelle, weil die unteren Teile des Nährbodens mit den von Amöben mitgenommenen Bakterien verunreinigt sind. Mit dem zweiten oder dritten Überimpfen erhält man so die Amöben mit der gezüchteten Bakterienart in Reinkultur. Eventuell ist das genannte Verfahren nochmals zu wiederholen. Die Kulturen lassen sich so beliebig oft weiterimpfen.

Da die Amöben notwendigerweise eines feuchten Mediums bedürfen, ist es gut, dem Nährboden einen möglichst hohen Wassergehalt zu geben. Von Agar ist ein Zusatz von 1,5 %, von Gelatine 10 % erforderlich, weil die Nährböden sonst nicht die erforderliche Festigkeit erlangen und in sich zusammensinken.

Die Amöbenentwicklung ist auf den festen Nährböden eine verschieden starke. Hierbei ist jedoch, wie ich später nachweisen werde, die Zusammensetzung der Böden nur insofern von Bedeutung, als es sich um die Ernährung der Bakterien handelt. Auch wird natürlich durch die gebotenen Nährstoffe die Bildung der Stoffwechselprodukte beeinflußt, welche auf die Amöben äußerst schädlich einwirken. Nach meiner Erfahrung sind Fucus crispus und Heyden-Agar für *A. l.* die geeignetsten Substrate.

2. Züchtungsresultate.

F. Doflein (8) steht den Züchtungsversuchen gegenüber auf sehr skeptischem Standpunkt. Er schreibt: „Nach den Darstellungen von Celli und Fiocca, Frosch, Casagrandi, Barbagallo, Kartulis, Schardinger, Beyerinck u. a. scheint es mir nicht zweifelhaft, daß die meisten gelungenen Amöbenkulturen sich nicht auf echte Amöben, sondern auf die amöboiden Zustände von *Myxomyceten* bezogen. Darauf weisen die Bilder und nebenbei eingeflochtenen Angaben der Autoren hin, so: daß die beobachteten Amöben so sehr zur Cystenbildung neigen, daß sie oft in einen Flagellatenzustand übergehen, bei manchen ist Plasmodienbildung beschrieben (wenn auch oft nicht erkannt); ferner weist das öfter erwähnte Aufwärtskriechen der Kulturen auf Myxomyceten hin. Bei einigen Autoren, so bei Cunningham u. a., ist gar kein Zweifel, daß sie Myxomycetenzustände, welche als Verunreinigungen in ihre Kulturen geraten waren, mit der Entwicklung der Amöben kombiniert haben."

Nach meinen Untersuchungen ist *A. l.* eine einheitliche Form, deren Entwicklung nur dann durch die Cystenbildung unterbrochen wird, wenn die veränderten Verhältnisse des Aufenthaltsortes ihre Lebensbedingungen nicht mehr zu erfüllen vermögen. Die Encystierung ist demnach als eine Schutzvorrichtung aufzufassen. Teilung

findet innerhalb der Cysten anscheinend nicht statt, wie ich schon an anderer Stelle eingehend erörtert habe. Es liegt daher zunächst kein Anlaß vor, die *A. l.* zu den *Mycetozoen* zu rechnen.

Als *Mycetozoen* (Pilztiere) oder weniger gut als *Myxomyceten* (Schleimpilze) bezeichnet man nach Zopf (38) eine Gruppe von Organismen, welche eine Grenzstellung zwischen Tier- und Pflanzenreich einnehmen und teils zu diesem, teils zu jenem eine nähere Verwandtschaft erkennen lassen. Namentlich sind die amöboiden Stadien leicht mit *Rhizopoden* zu verwechseln. Charakteristisch für die Mycetozoen ist die Bildung von Plasmodien (Fusions- resp. Pseudoplasmodien) und die Aneinanderlagerung der gestielten oder ungestielten Cysten zu Sori (Fruchtkörpern). Der Zerfall der Cysten in Teilstücke kann, wie weiter unten erörtert, nicht mehr als spezielle Eigentümlichkeit der Myxomyceten bezeichnet werden, wenn er auch hier meistens beobachtet wird. Auch die anderen Merkmale brauchen nicht immer gleichzeitig vorhanden zu sein, jedoch sprechen die von Doflein (8) angeführten Gründe, abgesehen von der Plasmodienbildung, durchaus nicht für Mycetozoen.

Was zunächst die mit Übergang in Flagellatenzustand verbundene Encystierung betrifft, so ist zu bemerken, daß ich *A. l.* wochenlang und in großer Menge in Kulturen gezüchtet habe, ohne daß sich die Tiere encystierten. Erfolgte aber Cystenbildung, so geschah dies bei allen Amöben derselben Kultur gleichzeitig, während sie bei denjenigen, welche rechtzeitig auf frische Nährböden übergeimpft wurden, unterblieb. Hieraus ergibt sich, daß die Amöben sich nur encystierten, wenn sie durch eine äußere Ursache: Mangel an Nahrung oder Feuchtigkeit etc. dazu gezwungen wurden. Eine vorhergehende Geißelbildung fand niemals statt. Von Flagellatenzuständen anderer Amöben ist meines Wissens in der von Doflein (8) angeführten Literatur auch nur in der Arbeit von Cunningham (34) die Rede, dessen Beobachtungen aber längst als irrtümlich erkannt worden sind, so daß sie hier durchaus nicht zum Beweise der Doflein'schen (8) Behauptung angeführt werden können.

Die Einschiebung einer Flagellatengeneration in den Entwicklungskreis der Amöben wäre an sich nichts Auffälliges, nachdem Schaudinn (29) bei *Paramoeba eilhardi* einen Zerfall in Teilstücke innerhalb der Cysten mit Schwärmerbildung beobachtet hat. Auch Scheel (33) konnte bei *Amoeba proteus* einen derartigen Zerfall des encystierten Amöbenkörpers nachweisen, allerdings entwickelten sich hier aus den Sprößlingen sogleich wieder Amöben. Dasselbe hat Schaudinn (31) bei *Entamoeba coli* Loesch beobachtet. Das Flagel-

latenstadium der Sprößlinge meint DOFLEIN (8) jedoch gar nicht, obgleich dessen Auftreten bei Myxomyceten eine häufige Erscheinung ist. Er ist vielmehr der Ansicht, daß, wie schon erwähnt, die durch widrige Verhältnisse zur Encystierung gezwungenen Amöben zuvor in ein Flagellatenstadium übergehen, der *Myxoflagellat* also ein kurzes Übergangsstadium zwischen *Myxamöbe* und Cyste bilde. Wie gesagt sind derartige Beobachtungen von den genannten Autoren nicht gemacht worden.

Was DOFLEIN (8) mit der „wenn auch oft nicht erkannten Plasmodienbildung" sagen will, ist nicht recht verständlich. Er gibt leider nicht an, welche Angaben der Autoren ihn zu dieser Ansicht geführt haben. Echte, also Fusionsplasmodien sind sicherlich von keinem Forscher bei den Züchtungen erhalten worden, denn diese wären höchst wahrscheinlich auch erkannt worden. Bei den Pseudo- oder Aggregatplasmodien ist ein Übersehen schon eher möglich. Man muß jedoch bedenken, daß die Amöben namentlich in einer natürlichen Kahmhaut bei starker Vermehrung sich infolge ihrer geringen Bewegungsfähigkeit schlecht voneinander entfernen können. Da aber diese Zusammenlagerung — wie ich auf Schnitten der in Paraffin eingebetteten Kahmhaut feststellen konnte — keine lückenlose ist, sondern dünne Schichten der Kahmhaut die einzelnen Amöben trennen, möchte ich hierin keine Plasmodienbildung erblicken. Vor der Encystierung zeigt jedoch *A. l.* die Eigentümlichkeit, sich an schon gebildete Cysten anzulagern. Es ist nicht erforderlich, daß dies Amöbencysten sind, in der Regel sind es jedoch solche. In der Tendenz sich anzuhäufen, kann vielleicht ein Schritt zur Plasmodienbildung gesehen werden, aber auch diese Eigentümlichkeit darf nicht als ein Charakteristikum der Mycetozoen hingestellt werden, da SCHEEL (33) eine derartige Zusammenlagerung der Cysten, wenn auch in weniger zahlreicher Menge, bei *Amoeba proteus* beschrieben hat.

Das Aufwärtskriechen auf der schrägen Oberfläche des Nährbodens, welches auch bei *A. l.* zu beobachten ist, ist nicht so zu verstehen, daß sich nun sämtliche Amöben an der obersten Stelle des Nährbodens ansammeln, wie bei einem negativen Geotropismus der Fall sein würde, sondern sie verlassen nur das Kondensationswasser und verbreiten sich über die ganze Oberfläche. Vorausgesetzt ist, daß sie hier Nahrung vorfinden. Impft man Amöben in das Kondensationswasser, ohne zuvor auf dem Nährboden Bakterien gezüchtet zu haben, so bleiben sie in dem Wasser, weil sie nur hier Nahrung in den gleichzeitig übergeimpften Bakterien vor-

finden. Das Aufwärtskriechen ist also nicht als negativer Geotropismus zu erklären, wie Doflein (8) wahrscheinlich annimmt, sondern beruht auf dem Nahrungsbedürfnis der Amöben. Eine Erscheinung, welche man als Trophotropismus bezeichnet hat. Obgleich ich die von Doflein (8) angeführten Gründe zu widerlegen versuchte, will ich doch die Frage, ob *A. l.* eine echte Amöbe oder ein Myxomycet ist, nicht entscheiden.

Man kann demnach aus meinen und auch aus älteren Versuchen entnehmen, daß tatsächlich Amöben gezüchtet worden sind. Es ist dies auch weiter nicht verwunderlich, denn es lassen sich ja auch andere höherstehende Protozoen, beispielsweise Infusorien, welche zweifelsohne als Tiere aufzufassen sind, züchten, wenn man ihnen günstige Lebensbedingungen bietet. Man darf sich nur nicht von dem Gedanken leiten lassen, die Amöben nach Art der Bakterien, nämlich mit Hilfe eines spezifischen Nährbodens, züchten zu wollen. Ich glaube, daß sich alle Amöbenarten züchten lassen, welche sich durch die Aufnahme von Bakterien zu ernähren vermögen, ausgenommen die parasitären Amöben, deren Züchtungsversuche nach Casagrandi und Barbagallo (6) mißlangen. Ich bin also der Meinung, daß die von Doflein (8) angeführten Gründe außer der Plasmodienbildung nicht für die Myxomycetennatur der gezüchteten Amöben sprechen. Daß *A. l.* zu den Myxomyceten gehört, ist allerdings gar nicht unmöglich. Die große Ähnlichkeit in der Kernteilung mit der des Algenpilzes *Basidiobolus* ist jedenfalls recht auffällig, obwohl andererseits die Mycetozoen selbst nach Jahn (18a) ganz andere Verhältnisse der Kernteilung zeigen. Bei der Encystierung der *A. l.* fällt die Tendenz auf, sich an schon gebildete Cysten anzulagern. Dies Bestreben der Individuen wird allerdings auch bei manchen Rhizopoden, wie nach Scheel (33) bei *Amoeba proteus* beobachtet, aber in diesen Fällen handelt es sich stets um eine geringe Menge von Cysten, während ich bei *A. l.* in einzelnen Fällen in der Kahmhaut des Strohaufgusses über 100 zählte. Diese Erscheinung könnte wohl ein Ausdruck der Plasmodienbildung sein. — Ob bei den anderen gezüchteten Amöben, wie Doflein vermutet, Plasmodien auftreten, kann nur eine erneute Untersuchung entscheiden, denn möglich ist schon, daß die Pseudoplasmodien übersehen oder nicht erkannt worden sind. Vorläufig erscheint mir jedoch die Angabe, daß die Züchtung der Amöben gelungen sei, nicht undenkbar. Man muß den Ausdruck züchten nur nicht im bakteriologischen Sinne verstehen und sich von dem Gedanken leiten lassen, die Amöben mit Hilfe eines spezifischen Nährbodens züchten zu wollen. Neben

anderen günstigen Lebensbedingnngen muß ihnen, wie auch den Myxomyceten, eine körperliche Nahrung dargeboten werden. Ich halte daher theoretisch die Züchtung derjenigen Amöben nicht für unmöglich, welche sich durch die Aufnahme von Bakterien zu ernähren vermögen. Die Züchtung der parasitären Amöben mißlingt wohl hauptsächlich deshalb, weil sie außerhalb des Wirtes bald zugrunde gehen.

Sei es nun, daß echte Amöben oder Myxomyceten gezüchtet worden sind, jedenfalls ist denkbar, daß die Nahrung auch aus toten Bakterien, künstlichen Eiweißkörnchen, Fettröpfchen, Stärkekörnchen etc. bestehen kann. Nach Meissner (36) findet auch tatsächlich eine Aufnahme von Fettröpfchen und Stärkekörnchen statt, letztere werden aber von Amöben nicht verdaut. Mit toten Bakterien hat Tsujitani (35) angeblich positive Resultate erzielt.

Aus diesen Erörternngen geht schon hervor, daß die Zusammensetzung der Nährböden für die Amöbenzüchtungen gar nicht so wichtig ist, wie andere Autoren angenommen haben. Die Tatsache, daß die Amöbenentwicklung auf einigen Nährböden eine kräftigere ist als auf anderen, hat seine Ursache in einer geeigneteren Ernährung der Bakterien. Auch wirken gewisse Nährböden durch den Gehalt später angeführter Substanzen hemmend auf ihre Entwicklung.

Nun ist allerdings beobachtet worden, daß Amöben selbst bei Gegenwart unwirksamer Bakterien, z. B. *Bact. col. comm.* imstande sind die Gelatine zu verflüssigen. Aus dieser Auflösung des Nährbodens vermögen die Amöben jedoch nach Beyerinck (3) keinen Nutzen zu ziehen. Es handelt sich nach seiner Meinung hierbei nur um eine Ausscheidung von Enzymen, welche bei der Entleerung der Nahrungsvakuolen mit nach außen gelangen und nun hier ihre fermentative Wirkung ausüben können. Es ist dies gleichzeitig ein Hinweis darauf, daß die Amöben in ihrem Körper einen fermentartigen Stoff zur Verdauung der Nahrung bilden.

Meine Untersuchungen ergeben weiterhin, daß die flüssigen Nährböden — soweit man überhaupt von Nährböden oder Nährflüssigkeiten reden kann — für Amöben, welche an der Oberfläche leben, nicht geeignet sind. Meine hierauf bezüglichen Mißerfolge führe ich darauf zurück, daß ich nur filtrierte und peinlichst sterilisierte Flüssigkeiten verwandte und mein Ausgangsmaterial stets rein war, d. h. nur aus Amöben bzw. deren Cysten und Bakterien bestand. Der Hauptvorteil der festen Nährböden beruht auf ihrer Konsistenz.

Da nun die Amöben den Nährböden die Nahrung nicht entnehmen, führen die Kulturmedien in bezug auf die Amöben zu Un-

recht den Namen Nährböden. Sie besitzen infolgedessen nur einen mittelbaren Einfluß durch die Ernährung der Bakterien auf die Amöbenentwicklung. Den Bakterien muß die Möglichkeit einer reichlichen, aber nicht zu kräftigen Vermehrung geboten sein, weil anderenfalls die Amöben auch nur ein schlechtes Wachstum und eine schwache Fortpflanzung zeigen.

Nach meiner Meinung sind alle indifferenten Substrate tauglich, welche noch imstande sind Bakterien zu ernähren, z. B. Agar ohne Zusatz außer Wasser oder Stärkekleister von derselben Konsistenz. Die Bedingungen, welche die Kulturböden überhaupt zu erfüllen haben, sind: mäßige Bakterienentwicklung, gewisser Feuchtigkeitsgehalt, geeignete Reaktion und Luftzufuhr. Licht ist, wenigstens bei *A. l.*, nicht erforderlich. Die Fortpflanzung erschien durch die Aufbewahrung der Kulturen im Dunkeln in keiner Weise gehemmt.

Wenn sich gewisse Nährböden gar nicht oder nur schlecht zur Züchtung eignen, so liegt dies, wenn obige Bedingungen erfüllt sind und, worauf schon hingewiesen ist, an einem Gehalt schädlicher Substanzen; hierher gehören beispielsweise die in der Bakteriologie gebräuchlichen Nährsalzlösungen und Liebig's Fleischextrakt. Schon ein geringer Zusatz vermag, wie auch Zaubitzer (37) festgestellt hat, die Entwicklung der Amöben erheblich zu hemmen oder vollständig zu verhindern. Da jedoch auch Amöben auf gewöhnlichem „Laboratoriumsagar" (Beyerinck [3]) gezüchtet worden sind, muß man annehmen, daß nicht alle Amöbenspezies gleich empfindlich sind. Diese verschiedene Empfindlichkeit äußert sich auch in bezug auf die Reaktion des Nährbodens. Für *A. l.* eignet sich am besten ein neutrales bis schwach alkalisches Medium und, wenn auch eine saure Reaktion auf einige Spezies nicht schädlich wirkt, so ist doch anzunehmen, daß die saure Reaktion zu deren Gedeihen nicht erforderlich ist.

Die Bakterien werden sich natürlich auf solchen möglichst indifferenten Nährböden weniger gut entwickeln können, aber dies ist ohne Nachteil. Ihre Kolonien bzw. der auf oben genannte Weise angelegte Bakterienrasen genügt immerhin, um das Nahrungsbedürfnis der Amöben auf einige Wochen zu befriedigen, und in dieser Zeit hat eine rapide Vermehrung der Amöben stattgefunden. Es ist im Gegenteil wohl darauf zu achten, daß die Bakterienentwicklung keine allzu starke ist, denn diese wirken alsdann höchst schädigend auf die Amöben. Hieran sind, wie sich auch Frosch (13)

und Zaubitzer (37) geäußert haben, die Stoffwechselprodukte der Bakterien schuld; die Amöben sterben in diesen Kulturen ab.

Zur Fütterung benutzte ich die genannten vier Bakterienarten, alle waren dazu geeignet, *Bac. subtilis* und *alvei* jedoch besser als *Bac. tumescens* und *asterosperus*. Obgleich ich meine Versuche in dieser Richtung nicht ausgedehnt habe, halte ich doch die von Frosch (13) gemachte Beobachtung, daß es auch Bakterien gibt, welche die Amöben nicht zu ernähren vermögen, für wahrscheinlich. Auch stimme ich ihm darin bei, daß die Ursache hierfür in giftigen bakteriellen Stoffwechselprodukten zu suchen ist. In gewisser Beziehung kommt jedoch auch namentlich bei kleinen Amöben wie die hier behandelte *A. l.* die Größe der Bakterien in Betracht.

Obgleich nun die bis jetzt gezüchteten Amöben an die Gegenwart von Mikroorganismen gebunden waren, wäre es doch durchaus falsch, dieses Zusammenleben mit Celli, Fiocca (7) und Zaubitzer (37) als Symbiose deuten zu wollen. Unter Symbiose versteht man bekanntlich das Zusammenwirken zweier Organismen zu ihrem beiderseitigen Vorteil. Demnach ist das Zusammenleben von *Radiolarien* und *Algen* als Symbiose zu bezeichnen, indem die im Protozoenkörper lebenden pflanzlichen Organismen diesen durch ihre Sauerstoffausscheidung nützlich sind. Welchen Nutzen sollten wohl die Bakterien aus dieser Vereinigung ziehen? — Er ist absolut auf seiten der Amöben, da diese gewissermaßen auf den Bakterienkolonien parasitieren und die Bakterien als Nahrung aufnehmen. Schon die Tatsache, daß eine Menge Bakterienarten den Amöben günstige Nahrungsverhältnisse zu bieten vermögen, hätte die Autoren stutzig machen müssen. Dazu kommt, daß Tsujitani (35) auch mit toten Bakterien gezüchtet hat.

Was endlich die auf künstlichen Nährböden gezüchteten Amöben selbst betrifft, so ist zu erwähnen, daß sich die Plasmastruktur ihres Zellkörpers auf festen Nährböden ändert. Der Körper dehnt sich auf diesen infolge der Bildung großer Flüssigkeitsvakuolen aus, so daß die Amöben scheinbar größer sind als gewöhnlich. Ich sage scheinbar größer, weil die starke Vakuolisierung des Zellkörpers nur so lange beobachtet wird, als die Amöben auf festen Nährböden gehalten werden. Bringt man sie von diesen in Wasser, so werden die Vakuolen zurückgebildet, und das Protoplasma behält alsdann diese normale Beschaffenheit bei. Neben diesen Vakuolen können auch zwei, drei und vier kontraktile Vakuolen auftreten, welche sich untereinander vereinigen und ihren Inhalt alsdann gemeinsam nach außen entleeren, oder sich auch einzeln oder paarweise vereinigt

entleeren. Man beobachtet zuweilen Amöben, welche im Innern neben kleineren Plasmavakuolen eine große exzentrisch gelegene Blase enthalten (Fig. 24). Das ganze Körperplasma bildet um diese nur einen schmalen Saum. Die Entleerung derartig großer Vakuolen — welche durch Vereinigung mehrerer entstanden sind — ist keine vollständige, sondern es bleibt nach dem Platzen eine kleine, allmählich wieder wachsende Vakuole zurück.

Eine derartige Vereinigung scheint auch unter den Nahrungsvakuolen stattzufinden, denn ich habe an lebenden und konservierten Objekten häufiger in einer großen Vakuole in Mengen Bakterien gesehen. Da ich jedoch eine derartige Vereinigung selbst nicht beobachtet habe, wäre es möglich, daß die Amöben die Bakterien nicht nur einzeln, sondern auch in Gruppen aufzunehmen vermögen.

Zaubitzer (37) hält die Vermehrung der Plasmavakuolen „mit erjagten oder gefangenen Bakterien und sonstigen Bestandteilen als Inhalt“ für eine Wachstumserscheinung, und zwar ist er der Meinung, daß die mit solchen Vakuolen versehenen Amöben „als Vorstadium der ausgewachsenen *Strohamöbe* anzusprechen sind“, weil die kleineren (bis 5 μ großen) ohne diese Nahrungsvakuolen vorkommen. Ich glaube kaum, daß sich die Ansicht Zaubitzer's (37) aufrecht erhalten läßt. Es ist doch höchst unwahrscheinlich, daß jüngere oder kleinere Amöben keine Nahrungsvakuolen bilden sollten, und man kann sich auch leicht von deren Vorhandensein unter dem Mikroskop überzeugen.

Mir scheint die Vergrößerung und Vermehrung der Vakuolen auf festen Nährböden der Ausdruck einer gesteigerten Körpertätigkeit zu sein. Wenn die Amöben das flüssige Medium, in diesem Fall das Kondensationswasser verlassen, wird das Plasma durch die Verdunstung der Körperflüssigkeit zu einer stärkeren Reaktion veranlaßt. Die schwachen, zarten Amöben sind durch die Austrocknung sehr gefährdet und müssen aus diesem Grunde möglichst viel Flüssigkeit in ihren Körper aufnehmen. Für diese Erklärung spricht auch die schon erwähnte Erscheinung, daß das Plasma wieder seinen ursprünglichen Bau annimmt, wenn man die Amöben in Wasser bringt. Sinkt der Feuchtigkeitsgehalt des festen Nährbodens durch Verdunstung unter einen bestimmten Prozentsatz, so sind die Amöben nicht mehr imstande, die ihrem Körper durch Verdunsten entzogene Körperflüssigkeit zu ersetzen, und encystieren sich alsdann, um dem durch Austrocknung drohenden Tode zu entgehen.

Auch die Cystenbildung verläuft bei *A. l.* auf festen Nährböden nicht immer normal. Es wird nämlich auf diesen häufig nur eine Cystenhülle gebildet. Die Bildung der äußeren Gallertschicht unterbleibt. Zaubitzer (37) hat nur diese, den normalen Verhält-

nissen nicht entsprechenden Cysten seinen Untersuchungen zugrunde gelegt. Auch gibt er irrtümlicherweise die Dicke der Wandung auf 1 μ an, während in Wirklichkeit der ganze Cystendurchmesser häufig nicht größer ist.

Am Schluß dieser Arbeit möchte ich nochmals ausdrücklich hervorheben, was übrigens an den fraglichen Stellen schon hervorgetreten ist, daß im Vordergrund meiner Untersuchung die Kernteilung der *Amoeba limax* und ihre Züchtung auf künstlichen Nährböden stand, während ich über die systematische Stellung dieses Organismus kein sicheres Urteil abzugeben vermag. Manche von mir beobachtete Eigenschaften desselben weisen große Übereinstimmungen mit gewissen Algenpilzen auf, aus welchem Grunde ich auch die von Loewenthal beschriebene Kernteilung von *Basidiobolus lacertae* und die von Fairchild über *Basidiobolus ranarum* eingehend berücksichtigt habe. Andererseits ließen gewisse Lebenserscheinungen dieser Amöbe eine Verwandtschaft mit Myxomyceten zu, da ich jedoch weder die Entstehung von Plasmodien noch die Bildung von Sori (Fruchtkörpern), welche für die Charakteristik der Mycetozoen maßgebend sind, beobachtet habe, so war die betreffende Amöbe auch hier nicht gut unterzubringen. Was ich aber aus dem Entwicklungscyklus der sog. *Amoeba limax* zu beobachten Gelegenheit hatte, berechtigt mich nicht, ein definitives Urteil über die Zugehörigkeit der im Sprachgebrauch allgemein als „Strohamöben" bezeichneten einzelligen Organismen zu irgend einer Gruppe der Protisten abzugeben.

Literaturverzeichnis.

1) Auerbach, L.: Über die Einzelligkeit der Amöben. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. VII. Leipzig 1856.
2) Behla, R.: Die Amöben, insbesondere vom parasitären und kulturellen Standpunkte. Berlin 1898.
3) Beyerinck, M. W.: Kulturversuche mit Amöben auf festen Substraten. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Jena 1896 Bd. XIX u. 1898 Bd. XXI.
4) Blochmann: Über die Kernteilung bei Englena. Biol. Centralbl. Bd. XIV 1894.
5) Bütschli, O.: Protozoen. Bronn's Kl. u. Ordn. d. Tierreichs. Leipzig und Heidelberg 1880–82 Bd. I 1.
6) Casagrandi, O. u. Barbagallo: Über die Kultur von Amöben. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Bd. XXI.
7) Celli, A. u. Fiocca, R.: Die Kultur der Amöben auf festem Substrat. Ibid. Bd. XIX.

8) Doflein, F.: Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena 1901.
9) —: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. Zool. Jahrb. Bd. X. Jena 1897.
10) Dujardin, M. F.: Histoire naturelle des zoophytes. Infusoires. Paris 1891.
10a) Fairchild, D. G.: Über Kernteilung und Befruchtung bei Basidiobolus ranarum Eidam. Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. XXX. Berlin 1897.
11) Fajardo, F.: Über die amöbische Hepatitis und Enteritis in den Tropen. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Bd. XIX.
12) Feinberg, L.: Über die Unterscheidung des Kerns der Pflanzenzellen von dem Kern der einzelligen tierischen Organismen. Bericht der Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. XIX 1901.
13) Frosch, P.: Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Bd. XXI.
14) Gorini, C.: Die Kultur der Amöben auf festem Substrate. Ibid. 1896 Bd. XIX.
15) Gruber, A.: Eine Mitteilung über Kernvermehrung und Schwärmerbildung bei Süßwasserrhizopoden. Berichte der naturf. Gesellsch. zu Freiburg. 1892.
16) Hertwig, O.: Die Zelle und die Gewebe. Jena 1893.
17) Hertwig, R.: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni. München 1898.
18) —: Über den Bau und die Entwicklung der Spirochona gemmipara. Jenaische Zeitschr. Bd. XI.
18a) Jahn, E.: Myxomycetenstudien. 3. Kernteilung und Geißelbildung bei den Schwärmern von Stemonitis flaccida Lister. Ber. D. Bot. Gesellsch. Bd. XX 1904.
19) Kartulis: Einiges über die Pathogenese der Dysenterieamöben. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. 1891 Bd. IX.
20) Keuten, J.: Die Kernteilung bei Euglena viridis Ehrbg. Inauguraldissertation. Leipzig 1895.
21) Kruse, W. u. Pasquale, A.: Untersuchungen über Dysenterie und Leberabszeß. Zeitschr. f. Hygiene 1894 p. 93.
22) Lang, A.: Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere. Protozoen. Jena 1901.
23) Lauterborn: Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig 1896.
23a Loewenthal, W.: Beiträge zur Kenntnis des Basidiobolus lacertae Eidam. Arch. f. Protistenkunde Bd. II. Jena 1903.
24) Miller, C. O.: Über aseptische Protozoenkulturen und die dazu verwendeten Methoden. Zentralbl. f. Bakt. u. Parasit. 1894 Bd. XVI.
24a) Olive, Edgar W.: Monograph of the Acrasieae. Proceedings of the Boston Society of Natural History. Vol. XXX. Boston 1902.
25) Pfeiffer, L.: Die Protozoen als Krankheitserreger. Jena 1891.
26) Schardinger, Franz: Reinkulturen von Protozoen auf festen Nährböden. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. Bd. XIX.
27) —: Protozoenkulturen. Ibid. Bd. XXII.
28) Schaudinn, Fr.: Über Kernteilung mit nachfolgender Körperteilung bei Amoeba crystalligera Gruber. Sitz.-Ber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wissensch. zu Berlin 1894.
29) —: Über den Zeugungskreis von Paramoeba eilhardi nov. gen., nov. sp. Ibid. 1896 II.

30) —: Über die Teilnng von Amoeba binncleata GRUBER. Sitz.-Ber. d. Gesellsch. natnrf. Frennde zu Berlin 1895 Nr. 6.

31) —: Untersnchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt XIX 3. Berlin 1903.

32) SCHEWIAKOFF: Über die karyokinetische Kernteilung der Englypha alveolata. Morph. Jahrb. Bd. XIII 1888. Leipzig.

33) SCHEEL: Beiträge znr Fortpflanzung der Amöben. Festschr. z. 70. Gebnrtstag von Carl v. Knpffer. Jena 1899.

34) SCHUBERG, A.: Die menschliche Amöbe des Dickdarms. Centralbl. f. Bakt. n. Parasit. Bd. XIII 1893.

35) TSUJITANI, J.: Über die Reinkultnr der Amöben. Ibid. Bd. XXIV.

36) VERWORN, M.: Psycho-physiologische Protistenstndien. Jena 1889.

37) ZAUBITZER, H.: Stndium über eine dem Strobinfus entnommene Amöbe. Inauguraldissertation. Marbnrg 1901.

38) ZOPF, W.: Die Pilztiere oder Schleimpilze. Encyklopädie der Naturwissenschaften. Breslan 1885.

Tafelerklärung.

Tafel VI.

Fig. 1—22 sind nach Schnittpräparaten mit Zeichenprisma nnd LEITZ hom. Imm. $^{1}/_{12}$ gezeichnet. Konservierung der Präparate mit Snblimat-Alkohol-Eisessig; Färbung nach HEIDENHAIN.

Fig. 1. Rnhender Kern.

Fig. 2—4. Differenzierung des Kerns in chromatische und achromatische Snbstanz.

Fig. 5—7. Ansammlnng von Chromatinkörncben zwischen den beiden Polkörpern. In Fig. 5 besteht zwischen letzteren noch eine feine chromatische Verbindnng.

Fig. 8. Kondensierung der Chromatinkörnchen zu Chromosomen. Bildung einer Äqnatorialplatte.

Fig. 9. Die Chromosomen sind in die Länge gewachsen nnd

Fig. 10 haben sich in Tochterchromosomen geteilt. Bildung der Seitenplatten.

Fig. 11. Anseinanderweichen der Seitenplatten.

Fig. 12 u. 13. Aneinanderlagerung nnd Verkleben der Tochterchromosomen. In Fig. 12 hat sich die Kernmembran schon dnrchgeschnürt.

Fig. 14. Abrundung der vereinigten Tochterchromosomen. Sie haben an Größe zngenommen, während die Polkörper stark verkleinert sind. Die Amöbe hat sich bereits in zwei Tochteramöben geteilt.

Fig. 15. Die Polkörper haben noch mehr Chromatin abgegeben. Der eine ist in zwei Chromatinstücke zerfallen.

Fig. 16. Vollständige Vereinignng von Polkörper und Chromosomen. — Übergang in den ruhenden Kern.

In Fig. 17—21 nnterbleibt die Chromosomenbildung.

Fig. 17 schließt sich an Fig. 7 an. Die Chromatinansammlung zwischen den beiden Polkörpern hat sich verdichtet.

Fig. 18 n. 19. Das Mittelstück ist stark in die Länge gewachsen und schnürt sich in der Mitte durch.

Fig. 20. Die Durchschnürung ist bis auf einen feinen Verbindungsfaden fortgeschritten. Die Kernmembran ist bereits durchschnürt.

Fig. 21. Die Teilung des Mittelstücks ist beendet und eine Drehung der Teilstücke eingetreten.

Fig. 22. Bildung der Tochterchromosomen durch einfache Querteilung.

Fig. 23. Lebende Amöbe während der Bewegung gezeichnet. Kern, kontraktile Vakuole, Ekto- und Entoplasma sind gut sichtbar.

Fig. 24. Eine dem künstlichen Nährboden entnommene Amöbe mit stark vergrößerter kontraktiler Vakuole.

Fig. 25. Amöbe aus Schnittpräparaten. Konservierung und Färbung wie oben.

Fig. 26. Cyste nach dem Leben mit Ok. 12 und Obj. 7 gezeichnet.

Fig. 27. Mehrere Cysten (Obj. 7 Ok. 3). Eine besitzt zwei Kerne; zwei sind durch die äußere Gallertschicht miteinander verklebt.

(Aus der I. medizinischen Universitätsklinik [Abteilung für Krebsforschung] zu Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. v. Leyden.)

Weitere Untersuchungen an Chytridiaceen.

I. *Synchytrium anemones Woronin.* II. *Olpidium Dicksonii (Wright) Wille.* III. *Zygorhizidium Willei nov. gen., nov. sp.*

Von

Dr. **Waldemar Loewenthal** (Berlin).

(Hierzu Tafel VII u. VIII.)

In einer früheren Veröffentlichung (Zeitschr. f. Krebsforschung Bd. III H. 1) habe ich auseinandergesetzt, in welche Beziehung znr Krebsforschung die Chytridiaceen gebracht worden sind, und daß sogar die Behauptung aufgestellt wurde, der Beweis sei erbracht, daß der Krebserreger in seinem Entwicklungsgang eine Chytridiacee sei (Behla). Ich bin mit meineu damaligen Untersuchnngen und Tierversuchen, zu denen mir Synchytrinm taraxaci diente, zn vollkommen negativem Ergebnis in dieser Richtung gekommen. Wenn ich nun auch nicht annehmen konnte, daß weitere derartige Untersuchungen das Resultat wesentlich ändern würden, so hielt ich es, um meine Kenntnisse zu erweitern und um eine breitere Grundlage für mein Urteil zu gewinnen, dennoch für meine Pflicht, die sich mir bietende Gelegenheit zur Untersuchung anderer Chytridiaceen-Arten nicht unbenutzt vorübergehen zu lassen. und da die neueren Hilfsmittel bei Chytridiaceen-Untersuchnngen noch nicht oft angewandt worden sind, scheint es mir auch ohne Rücksicht auf die Krebsforschung angezeigt, die Ergebnisse hier mitzuteilen.

I. Synchytrium anemones Woronin.

Am 29. Mai 1904 fand ich in Dröback (Norwegen) am Waldrand in der Nähe der Befestigungen auf weite Strecken hin Anemone nemorosa stark infiziert mit Synchytrium anemones. Ich habe eine Anzahl der erkrankten Blätter gesammelt und gleich mit heißem Sublimat-Alkohol nach Schaudinn fixiert und später nach Paraffineinbettung geschnitten; andere habe ich für einige Tage in Wasser gelegt, aber es kam dabei, wie ja auch zu erwarten war, nicht zur Bildung von Schwärmsporen. Die Infektion war an manchen Blättern sehr stark, und während bei schwacher Infektion Fischer's Bemerkung, daß S. anemones keine Wachstumsanomalien der befallenen Organe hervorruft, zu Recht besteht, trifft dies bei den stark befallenen Blättern durchaus nicht zu; denn diese, hart durch die Häufung der miteinander konfluierenden Wärzchen, können derartig stark verkrümmt und eingerollt sein, daß sie vollkommen stabförmig erscheinen. Schröter gibt dementsprechend auch Verunstaltung durch den Parasiten an. Das Zustandekommen der Verkrümmungen wird durch das Betrachten eines Blattquerschnittes leicht verständlich: jede der infizierten Zellen sowie die Nachbarzellen übertreffen an Größe die normalen um ein Vielfaches, und wenn auf einer Seite des Blattes die Parasiten dichter liegen, vergrößert sich dadurch die Oberfläche derart, daß das Blatt sich nach der anderen Seite über die Fläche krümmen muß.

Der Parasit selbst ist bekanntlich ungefärbt, dagegen ist die befallene Zelle wie die Nachbarzellen erfüllt mit einem blauroten Farbstoff, der nach Ludwig's Angabe Anthocyan ist.[1]) Der Farbstoff ist so undurchsichtig, daß im frischen Präparat der Parasit erst deutlich sichtbar wird, wenn man durch stärkeren Druck den Farbstoff herauspreßt, wobei man ihn als rötliche Wolken in das umgebende Wasser eintreten sieht. Nach wenigen Minuten ist aber die rote Farbe verschwunden, dafür zeigen nun die in der Nähe

[1]) Behla (l. c. p. 33) meint, gestützt auf die Farbstoffbildung durch S. anemones, es sei „auch Hoffnung vorhanden, daß wir über die so eigentümliche Erscheinung der Pigmentkarzinome Aufschluß erhalten. Denn alle Sophistik und alle Erklärungen ... sind bisher nicht imstande gewesen, das Phänomen plausibel zu machen.“ Nun, ganz abgesehen von der Verschiedenheit der Chytridiaceenfarbstoffe und der Pigmente melanotischer Tumoren, die schon in ihrer verschiedenen Löslichkeit zum Ausdruck kommt: mir erscheint das Phänomen der Pigmentbildung in melanotischen Tumoren in genau demselben Maße plausibel, wie die Pigmentbildung in der Chorioidea oder wie die in der Chytridiaceenzelle (S. taraxaci) oder in ihrer Umgebung (S. anemones).

befindlichen Blattzellen eine recht distinkte, himmelblaue Kernfärbung. Der Parasit selbst nahm aber dabei keine Kernfärbung an, selbst wenn seine Membran gesprengt war, dagegen färbten sich manchmal die zahlreichen am lebenden Objekt sichtbaren Reservestoffkugeln schwach blau.

Die Parasiten selbst bieten ein ziemlich monotones Bild, da sie, bis auf die verschiedene Größe, alle im gleichen Entwicklungsstadium gefunden wurden. Es waren nämlich alles Dauerzellen, manchmal auch etwas jünger mit noch nicht verdickter Membran, aber ganz junge Exemplare habe ich nicht gefunden. Der Parasit liegt in dem der Blattoberfläche abgewandten Teil einer stark erweiterten Epidermiszelle (Fig. 1), die er bei weitem nicht ausfüllt; er hat im konservierten Zustande eine Größe von über 60 μ und ist im allgemeinen kugelig. Er ist umgeben von einer 0,8—1,7 μ dicken gelblichen, glatten Membran, die sich bei Anwendung von Hämatoxylin oder Boraxkarmin nicht färbt, mit Eisenhämatoxylin schwärzt, mit Giemsa-Färbung (Methylenazur-Eosin) blau, mit Jodgrün-Fuchsin (nach Zimmermann) rein grün wird. Das Plasma ist im Leben erfüllt mit kleinen fettglänzenden Kügelchen und Scheibchen (Reservestoffen), die sich offenbar in den Konservierungsflüssigkeiten lösen, denn am farbigen Präparat ist das Plasma grobvakuolisiert (Fig. 1 und 2), wie ich es auch schon von den Dauerzellen von S. taraxaci abgebildet habe. Es nimmt die verschiedenen angewandten Farben ziemlich intensiv an und enthält häufig ziemlich große, mit Hämatoxylin stark färbbare Körnchen. Die beobachteten Dauerzellen enthielten alle einen einzigen großen Kern, der auf den ersten Blick etwa so aussieht, wie ich den Kern der Dauerzellen von S. taraxaci oder wie die beiden Stevens den von S. decipiens abgebildet haben; bei genauerer Untersuchung treten aber doch bedeutende Unterschiede hervor. Er ist ziemlich zentral gelegen, rund oder länglich, meist etwa 15—17 μ groß; eine Kernmembran ist häufig deutlich zu erkennen, wohl ebenso häufig aber ist ihr Vorhandensein mit Sicherheit auszuschließen (Fig. 2). Der Kern erscheint dann bei Untersuchung mit starker Vergrößerung durch die umgebenden Vakuolen unregelmäßig eingebuchtet. Der Kern wird erfüllt von einer feinkörnigen Masse, die bei starken Vergrößerungen hier und da einmal Andeutung von Alveolarstruktur zeigt, meist aber nichts dergleichen erkennen läßt. Dieser Teil des Kernes hat keine Affinität zu den Kernfarbstoffen, erscheint bei Anwendung von Hämatoxylin sogar schwächer gefärbt als das umgebende Protoplasma, und verhält sich gegen Eisenhämatoxylin oder Boraxkarmin wie das

Protoplasma. Mit GIEMSA-Färbung wird er ebenso wie das Protoplasma rötlichblau; mit Jodgrün-Fuchsin färbt sich dieser Teil intensiver rot als das Protoplasma. Als geronnener „Kernsaft“ ist dieser Kernbestandteil kaum aufzufassen, es müßten sonst die Binnenkörper der Membran, soweit eine solche vorhanden ist, anliegen. Es enthält nämlich jeder Kern einen kugelrunden, etwa 3—7 μ großen, meist annähernd zentral liegenden Binnenkörper, der sehr scharf umgrenzt ist. Die ganze Chromatinmasse des Kernes ist in diesem Binnenkörper aufgespeichert, der offenbar sehr dicht ist und sich bei kürzerer Färbungsdauer daher schlecht färbt; so mußte ich z. B. eine Hämatoxylinlösnng, in der andere Objekte schon nach wenigen Minuten überfärbt waren, mehrere Stnnden einwirken lassen, um gute Färbnngen zn erzielen. Hat der Binnenkörper aber die Kernfarbe erst angenommen, dann hält er sie auch intensiv fest. Mit Jodgrün-Fuchsin färbt er sich leuchtend grün, mit GIEMSA-Färbnng rot. Der Binnenkörper zeigt meist eine dentliche alveoläre Strnktur nnd besteht aus einer weniger dichten äußeren Schicht und einem kompakten zentralen Teil, die gewöhnlich ziemlich scharf gegeneinander abgegrenzt sind. Es können auch zwei gleich große Binnenkörper vorhanden sein oder ein großer nnd mehrere ganz kleine, die namentlich bei Anwendung von Jodgrün-Fuchsin dnrch ihre grüne Färbung deutlich hervortreten.

Doppel- und Dreifachinfektion einer Epidermiszelle ist verhältnismäßig häufig. Daß auf der Pflanze durch die Infektion zusammengesetzte Warzen hervorgerufen werden, d. h. Warzen, an deren Bildnng außer der befallenen anch die benachbarten Epidermiszellen beteiligt sind, ist schon den ersten Beobachtern DE BARY und WORONIN bekannt gewesen. Ich habe, namentlich an schwächer befallenen Blättern mit einzeln stehender Warzen, den Eindruck gewonnen, daß die Warzen nur durch Vergrößerung der Zellen entstehen nnd daß eine Zellvermehrung nicht stattfindet, mit anderen Worten also, daß nicht eine Tumorbildung vorliegt, sondern nur eine, freilich bedeutende, Hypertrophie einiger Zellen (Fig. 1). Hiermit und mit der Farbstoffbildnng ist jedoch die Einwirkung des Parasiten noch nicht erschöpft. Denn abgesehen davon, daß (wie schon bekannt) die befallene Zelle im Gegensatz zu den übrigen fast leeren Epidermiszellen von einem grobschaumigen Plasma erfüllt ist, erleidet regelmäßig anch ihr Kern eine eigenartige Veränderung. Im Zentrum der befallenen Zelle (Fig. 1) liegt nämlich nicht ein einheitlicher Kern, sondern von etwas dichterem Plasma umgeben ein Haufen sich nach verschiedenen Richtungen durchkreuzender,

grober Balken chromatischer Substanz, die also dieselben Farbenreaktionen geben, wie der Binnenkörper des Synchytrium. Diese Kernveränderung habe ich ausnahmslos in jeder befallenen Zelle gefunden; wie diese Veränderung zustande kommt und was weiter aus ihr wird, vermag ich nicht anzugeben.

II. Olpidium Dicksonii (Wright) Wille.

Am 29. Mai 1904 fand Herr Prof. Wille im Christianiafjord in Dröback an einem Felsen vor der biologischen Station Pylaiella litoralis infiziert mit Olpidium Dicksonii und überließ mir freundlichst das Material zur Untersuchung. Olpidium Dicksonii ist, abgesehen von der var. Striariae Wille bisher nur bei verschiedenen Ectocarpus-Arten gefunden worden; die Stellung im System war zweifelhaft, und es erschien eine Untersuchung mit Anwendung von Kernfärbungen nicht uninteressant. Nach kurzer orientierender Untersuchung am lebenden Objekt wurde das Material an Ort und Stelle in heißem Sublimat-Alkohol nach Schaudinn fixiert und nach üblicher Behandlung mit Jod-Alkohol allmählich in 93 proz. Alkohol gebracht. Zur Färbung wurden kleinere Zweige der Alge aus dem Alkohol allmählich in Wasser übertragen, mit Böhmer'schem Hämatoxylin gefärbt, in Alkohol entwässert und schließlich in Kanadabalsam mit Nadeln in einzelne Fäserchen zerzupft. Färbung mit Eisenhämatoxylin oder Jodgrün-Fuchsin gab keine guten Resultate.

Im Leben enthielten die Olpidiumzellen viel Fettröpfchen oder waren stark vakuolisiert, und daher zeigen sie in den konservierten Präparaten fast durchweg einen sehr weitmaschigen Bau. Das jüngste Exemplar, das ich gefunden habe, stellt Fig. 3 dar. Der Parasit liegt in der Pylaiellazelle neben dem Zellkern (der Raumersparnis wegen ist von der Wirtszelle nur der Kern mit seinem Kernkörperchen gezeichnet), ist in seiner Grundform kugelig, von der Peripherie gehen einige kurze spitzige Fortsätze aus, sowie auch breitere Lappen, die dann noch spitzige Fortsätze tragen; es macht also ganz den Eindruck eines amöboid beweglichen Gebildes. Das Vorhandensein einer Membran ist an diesem Exemplar mit Sicherheit auszuschließen. Die Hauptmasse des Plasmas ist großmaschig angeordnet und nur in der Umgebung des exzentrischen Kerns von dichterer Beschaffenheit. Der Kern ist sehr klein, kugelig, im Zentrum etwas weniger gefärbt als an der Peripherie. Dieses etwa 5 μ große Exemplar ist leider das einzige einkernige, das ich im frisch konservierten Material habe finden können. In Material,

das ich vor der Fixierung 24 Stunden in einem kleinen Gefäß mit Seewasser hatte stehen lassen, fand ich in einem Pflänzchen ziemlich viel einkernige Exemplare; von diesen zeigte keines derartige pseudopodienartige Fortsätze. Bei mehrkernigen Exemplaren habe ich keine Pseudopodien mehr gesehen. Das Plasma wird immer weitmaschiger, bei jüngeren Parasiten, wie dem in Fig. 4 abgebildeten vierkernigen (in der gezeichneten Ebene waren nur 2 Kerne gleichzeitig sichtbar), ist es in der Umgebung der Kerne noch etwas dichter, später hört jedoch auch dies auf, und die unregelmäßig konturierten Kerne liegen als Knotenpunkte in dem weiten Maschenwerk (Fig. 5). Die das Netzwerk bildenden Plasmastränge werden dabei sehr dünn. Ich möchte diese Struktur hier nicht als Alveolarstruktur des Protoplasma im Sinne von Bütschli ansprechen, wogegen schon die außergewöhnliche Größe der Hohlräume spricht, sondern es sind die angehäuften Fettmassen, die das Protoplasma zwischen sich zu den dünnen Strängen zusammengepreßt haben. Eine eigene Membran besitzt der Parasit auch in diesen Stadien noch nicht, seine Umgrenzung entspricht vollkommen den einzelnen Lamellen des Maschenwerkes. Eine Membran tritt erst vor der Umwandlung des Parasiten zum Sporangium auf, sie ist sehr zart, glatt und durchsichtig und ist besonders deutlich zu sehen, wenn das Olpidium der Wandung der Wirtszelle nicht anliegt. Auf welchen Ursachen die Umwandlung zum Sporangium beruht, vermag ich nicht anzugeben; jedenfalls ist sie unabhängig von den Größenverhältnissen, denn sie erfolgt manchmal in Fällen, wo der Parasit noch allseitig frei in der Wirtszelle liegt. Abgesehen vom Auftreten der Membran ist der Beginn der Zoosporenbildung auch im Zellinnern zu erkennen. Die Kerne sind zu diesem Zeitpunkt nämlich sehr klein, ganz scharf umgrenzt und nach ihrer sehr intensiven Färbung mit Hämatoxylin zu schließen, viel dichter als vorher. Auch das Protoplasma wird bedeutend dichter, es bildet zunächst ein Netzwerk grober Balken und sammelt sich schließlich als zusammenhängende Schicht ohne erkennbare Struktur an der Peripherie an (Fig. 6); auf dem optischen Schnitt liegen die zahlreichen Kerne in einer Reihe in dieser Plasmaschicht. Die Zoosporen liegen daher im fertigen Zoosporangium, ebenfalls fast sämtlich eine Schicht bildend, der Innenwand der Membran angelagert (Fig. 7); die Stelle, an der die Membran sich öffnen wird, bleibt dabei häufig frei. Die einzelne Zoospore im Zoosporangium ist rund, hat eine oder mehrere große Vakuolen und einen sehr kleinen, soliden Kern. Eine Geißel konnte ich an den Zoosporen vor ihrem Austritt nicht erkennen, und freie Zoosporen habe ich in

meinen Präparaten nicht gefunden, was ja auch bei der Art ihrer Herstellung nicht verwunderlich ist. Das Zoosporangium sprengt vor seiner Eröffnung die Wirtszelle und ragt dann mit einem mehr oder weniger großen Teil aus derselben hervor; es öffnet sich mit einer oder mehreren Öffnungen.

Das Verhalten des Parasiten zur Wirtszelle kann verschieden sein, wie schon Rattray hervorgehoben hat; die einen Male ruft ein kleiner, kugelförmiger Parasit, der auch in einer nicht vergrößerten Zelle reichlich Platz haben würde, eine bedeutende Auftreibung der Wirtszelle hervor, andere Male kann man in einer nicht vergrößerten Zelle einen großen, vielkernigen Parasiten finden, der sich in seiner Form der Wirtszelle hat anpassen müssen. Ich habe keinen Grund für dies verschiedene Verhalten ausfindig machen können, insbesondere ist es nicht abhängig von der verschiedenen Dicke der Pylaiella-Membran. Kern und Chromatophore der Wirtszelle können lang erhalten bleiben und sind manchmal noch vollkommen deutlich vorhanden, wenn der Parasit schon die ganze Zelle ausfüllt. Die Pyrenoide der Pylaiella sind in Kanadabalsam-Präparaten häufig schwer zu erkennen; sie scheinen in den befallenen Zellen früh zu schwinden. Daß bei der weiteren Vergrößerung des Parasiten und der Sprengung der Membran die Wirtszelle schließlich zugrunde geht, bedarf keiner besonderen Erklärung. — Doppel- und Dreifachinfektion einer Zelle ist verhältnismäßig selten. Die Pylaiella-Gametangien scheinen gegen das Befallenwerden besonders geschützt zu sein, ich habe im ganzen zweimal einen Parasiten darin gefunden (Fig. 4).

Dieser Parasit ist zuerst von Wright 1877 als Rhizophydium Dicksonii beschrieben worden, danach brachte Hauck eine kurze Notiz über sein Vorkommen in der Adria und schließlich Rattray 1885 eine ausführliche Beschreibung mit guten Abbildungen. Sie alle stellten den Parasiten zur Gattung Rhizophydium, und auch Fischer ebenso wie Schröter schlossen sich ihnen an, obwohl keiner der Autoren ein Mycel beobachtet hatte und daher der Parasit überhaupt nicht zu den Mycochytridinen gehören konnte. Hierauf hat erst Wille 1899 hingewiesen, der eine neue in Striaria lebende Varietät beschrieb, und den Parasiten der Gattung Olpidium einreihte. Auch ich habe an der Hauptform ebensowenig wie Wille bei der Varietät ein intramatrikales Mycel gefunden. Ferner kann ich Wille's Ansicht, daß der Parasit im Sporangienstadium seine eigene, von der der Wirtszelle getrennte Membran besitzt, bestätigen, was übrigens auch schon an Rattray's Abbildungen deutlich ist.

Was nun Fischer's zweifelnde Anmerkung betrifft, „nach Wright's Bildern scheinen die Sporangien zum Teil auch in den Zellen zu sitzen", so könnte man unter Berücksichtigung der Entwicklung den Satz besser umkehren: die Sporangien sitzen in den Zellen und ragen nur teilweise aus ihnen heraus.

III. **Zygorhizidium Willei** nov. gen., nov. spec.

Anfang Mai 1904 war auf dem Berge Grefsenaas bei Christiania an einer feuchten Felswand in größerer Menge die einzellige konjugate Alge Cylindrocystis Brebissonii fast ohne weitere Beimengungen gefunden und in einem Pulverfläschchen mit dem Wasser, das an der Felswand herabrieselte, im Laboratorium aufbewahrt worden. Als ich nach etwa 3 Wochen, am 2. Juni 1904, das Gläschen wieder nachsah, fand ich einen großen Teil der Cylindrocystis-Zellen infiziert von der hier zu beschreibenden Chytridiacee. Die Untersuchungen geschahen in der Hauptsache am lebenden Objekt, indem ich den Inhalt des Fläschchens immer von neuem untersuchte und dann die gefundenen Stadien kombinierte; ich war auf solche Kombinierung angewiesen, da in feuchten Kammern keine Weiterentwicklung eintrat. Die Untersuchung konnte auf diese Weise 12 Tage bis zu meiner Abreise aus Christiania durchgeführt werden. Außerdem wurden Dauerpräparate in der Weise hergestellt, daß kleine Partikelchen aus dem Fläschchen unter Zusatz einer Eiweißlösung auf Deckgläschen mit heißem Sublimat-Alkohol nach Schaudinn fixiert und nach üblicher Alkoholbehandlung mit Boehmer'schem oder versuchsweise auch mit Eisenhämatoxylin gefärbt wurden. Am besten gelangen einige Präparate, in denen ich die Zellen vor der Sublimat-Alkohol-Fixierung mit Osmiumsäure abgetötet hatte. Die Parasiten nahmen die Farbe schwer an, hielten sie dann aber sehr fest, so daß es mir nicht gelang, derartig distinkte Kernfärbung zu erzielen, wie man es sonst gewöhnt ist. Der gefundene Parasit würde in die Gattung Rhizidium in der Umgrenzung von Fischer wohl hineinpassen, unterscheidet sich aber von ihr durch das Vorhandensein einer heterogamen Copulation, ein so wichtiger Unterschied, daß trotz aller Schen vor neuen Gattungen die Aufstellung einer neuen Gattung Zygorhizidium gerechtfertigt erscheinen dürfte. In Erinnerung an meinen verehrten Lehrer auf diesem Gebiete, Herrn Prof. Wille, nenne ich den neuen Parasiten Zygorhizidium Willei.

Ebenso wie bei Rhizidium bildet sich der Körper aus der

erstarkten Schwärmspore; er bleibt außerhalb der Wirtszelle, in welche nur eine Blase und davon ausgehende überaus feine, kurze Hyphen hineinragen. Der außerhalb liegende Teil ist mehr oder weniger genau kugelig, seine Größe schwankt zwischen 4—15 μ (Fig. 9—12). Nur die kleinsten Exemplare weichen erheblicher von der Kugelgestalt ab und sind länglich birnförmig, mit der Längsachse annähernd senkrecht zur Membran der Cylindrocystis-Zelle gestellt. Bei diesen kleinsten Exemplaren ist häufig der in die Wirtszelle ragende Teil noch nicht zu einer besonderen Blase ausgebildet, sondern erscheint als direkte, spitze Fortsetzung des ganzen, birnförmigen Körpers (Fig. 8).

Der intramatrikale Teil des Parasiten ist an vollkommen lebensfrischen, prall von ihrem Inhalt erfüllten Zellen der Cylindrocystis häufig schwer oder gar nicht zu erkennen; doch gelingt es regelmäßig durch Zerdrücken der Wirtszelle ihn sichtbar zu machen. Hat sich der Inhalt der Cylindrocystis von der Membran zurückgezogen, dann reicht der intramatrikale Teil des Parasiten regelmäßig so tief hinein, daß er den Inhalt noch erreicht (Fig. 12), wodurch dann ausnahmsweise ganz ausgedehnte Gebilde entstehen können, wie beim kleineren Parasiten in Fig. 9. Der auffälligste intramatrikale Teil ist das erwähnte kleine Bläschen, das mit dem extramatrikalen Teil manchmal durch einen ganz kurzen, feinen Hals in Verbindung steht; daß dieser Hals eine solche Länge erreichte, wie in Fig. 31, und dann noch außerhalb der Membran eine zweite bläschenförmige Anschwellung besaß, habe ich nur dies eine einzige Mal beobachtet. Meistens aber läßt sich kein Hals zwischen den beiden Teilen nachweisen und es läßt sich dann bei dem starken Lichtbrechungsvermögen der Cylindrocystis-Membran häufig nicht sicher feststellen, ob sie überhaupt in offener Kommunikation miteinander stehen, wenngleich es wohl regelmäßig der Fall sein dürfte. Die Größe des Bläschens beträgt 1—2 μ und ist unabhängig von der Größe des extramatrikalen Teils. Das Bläschen ist meist nicht kugelig, sondern abgeplattet, und hat an der inneren Seite gewöhnlich eine mehr oder weniger tiefe Delle, durch welche manchmal das Bläschen gelappt erscheint. Von dem Bläschen gehen die intramatrikalen Hyphen aus, und zwar inserieren sie an der Delle, wenn eine solche vorhanden ist. Diese Hyphen, die manchmal gar nicht mit Sicherheit zu erkennen sind, sind ganz außerordentlich zart und kurz und würden nach ihrem äußeren Aussehen viel eher den Namen feiner Härchen verdienen. Meistens sind zwei unverzweigte härchenartige Hyphen vorhanden oder eine einzige, die sich

an der Spitze teilt; eine so starke Ausbildung, wie in Fig. 19, gehört zu den Seltenheiten.

Der außerhalb der Wirtszelle liegende Teil des Parasiten besitzt eine, wenn anch dünne, so doch deutliche, mäßig stark lichtbrechende Membran, an der ich eine besondere Struktur nicht nachweisen konnte. Die Cellulosereaktion mit Chlorzinkjodid ist negativ, auch färbt sie sich nicht mit Boehmer'schem Hämatoxylin; bei Anwendung von Eisenhämatoxylin sieht man rings um das Protoplasma eine homogene, gefärbte Zone, doch glaube ich, daß hier nicht die Membran selbst gefärbt ist, sondern daß der Farbstoff in dem Raum zwischen der Membran und dem retrahierten Protoplasma zurückgehalten wird, denn die Membran der leeren Sporangien bleibt auch mit Eisenhämatoxylin bei mittlerer Differenzierung ungefärbt.

Die Membran wird von ihrem Inhalt im Leben meistens vollständig ausgefüllt. Der Inhalt ist ungefärbt, färbt sich mit Jodtinktur gelblich-braun. In den jüngsten Stadien ist an lebenden Exemplaren manchmal eine alveoläre Struktur des Inhalts zu erkennen (Fig. 8), später wird er undurchsichtiger und füllt sich mehr und mehr mit feinen, nicht sehr stark lichtbrechenden Körnchen (Fig. 9). In konservierten und mit Hämatoxylin gefärbten Präparaten ist der Zellinhalt in verschiedenem Maße von der Membran retrahiert. Das Protoplasma hält die Farbe ziemlich intensiv fest, es zeigt an konservierten Präparaten alveolären Bau, am deutlichsten und regelmäßigsten an den kleinsten Exemplaren, doch ist auch an den größeren bei einiger Übung und guter Beleuchtung dieser Bau zu erkennen. Doch ist die Größe der Alveolen ganz außerordentlich gering, $^1/_2$ μ und weniger. Je größer der Parasit ist, um so dichter erscheint im allgemeinen sein Protoplasma (Figg. 33—36). Die Kerne am lebenden Objekt mit Sicherheit zu erkennen, ist mir nicht gelungen; nur ganz ausnahmsweise konnte ich manchmal einige kreisförmige, hellere, körnchenfreie Flecke sehen (Fig. 11), die wohl als Kerne anzusprechen waren. Bei Anwendung von Kernfärbungen erweisen sich die kleineren Exemplare als einkernig (Fig. 33), die größeren enthalten je nach ihrer Größe mehrere bis viele Kerne (Fig. 34—36). Die kugeligen Kerne haben eine Größe von $^1/_2$—1 μ und zwar sind sie im allgemeinen um so kleiner, je zahlreicher sie sind. Sie sind mäßig scharf begrenzt, häufig von einem ziemlich deutlichen helleren Alveolarsaum umgeben. Struktureinzelheiten habe ich an den Kernen nicht zu erkennen vermocht, meistens erschienen sie vollkommen solid und homogen, andere Male war nur

die Peripherie stark gefärbt und das Centrum heller (Fig. 36), einige Male erinnerten sie auch an Siegelringformen, indem die stärker färbbare Substanz eine einseitige Platte bildete. Wie die Kernteilung vor sich geht, ist bei der wenig distinkten Färbung und der geringen Größe des Objektes schwer zu verfolgen, doch glaube ich bestimmt Äquatorialplatten mit Spindeln gesehen zu haben (ich glaubte einmal sogar Centrosomen zu erkennen), sowie auch Seitenplattenstadien, bei denen ich aber eine Spindelfigur nicht finden konnte.

Dieser vielkernige Inhalt zerfällt nun in einzelne Zoosporen und so wird der ganze Körper zum Zoosporangium. Der Zerfall in Zoosporen kann schon sehr früh eintreten, und so habe ich Zoosporangien mit nur vier Zoosporen gesehen, während andererseits die Zahl der Zoosporen bis über 40 betragen kann. Es grenzt sich um jeden Kern eine Protoplasmaportion ab, die Oberfläche des Zoosporangiuminhaltes gewinnt dadurch ein höckeriges, maulbeerartiges Aussehen; jedes der Höckerchen trägt an seiner Spitze ein stark lichtbrechendes, ungefärbtes Fettröpfchen (Fig. 13). Am gefärbten Präparat (Fig. 37) kann man in jedem der Teilstücke die auf den aufgelösten Fettropfen zurückzuführende Vakuole und einen mehr oder weniger an die Wand gepreßten Kern erkennen. Der vollständige Zerfall in einzelne Zoosporen erfolgt innerhalb des Zoosporangiums, und man kann, bevor es sich öffnet, die Zoosporen wild darin umherschwärmen sehen. Der gesamte Inhalt wird ohne Rest zur Bildung der Zoosporen aufgebraucht.

Das Zoosporangium öffnet sich mit Hilfe eines großen Deckels, der freilich nicht immer ganz in der Nähe zu finden ist; das Öffnen des Deckels erfolgte zwar nie unter meinen Augen, doch schließen die häufigen Befunde wie Fig. 17 und Fig. 18 (hier ist der Deckel von der Konkavseite gesehen) wohl jeden Zweifel aus. Manchmal scheint die Durchtrennungsstelle des Deckels schon sehr früh angedeutet zu sein (Fig. 14), meistens jedoch ist selbst bei sehr weit in der Bildung vorgeschrittenen Zoosporangien nichts dergleichen festzustellen. Die Öffnung liegt allermeist am Scheitel des Zoosporangiums, kann aber auch ganz seitlich liegen (Fig. 20). In selteneren Fällen können statt einer einzigen auch zwei Öffnungen vorhanden sein (Fig. 21); mehr als zwei habe ich nie beobachtet. Das entleerte Zoosporangium besteht nur aus der durchsichtigen Hülle. Durch eine seichte Einschnürung unterhalb der Öffnung erhält das leere Zoosporangium eine vasenartige Form.

Die Zoosporen (Fig. 15) sind kleine Gebilde von 2—3 μ Länge

und $1^{1}/_{2}$—2 μ Breite; sie sind ungefärbt und ziemlich durchsichtig. Am Vorderende tragen sie einen abgeflachten, über die Oberfläche vorspringenden, farblosen, stark lichtbrechenden Fettropfen. Der größte Durchmesser liegt vor der Körpermitte; dahinter nimmt der Durchmesser bald ab, dabei ist aber die eine Seite meist weniger gewölbt als die andere, wodurch eine ziemlich auffällige Asymmetrie hervorgebracht wird. Das spitz zulaufende Hinterende läuft in eine zarte, gleichmäßig dicke Geißel von etwa doppelter Körperlänge aus. Durch peitschenartiges Schlagen der Geißel wird die Spore in zitternde, sprunghafte Bewegung gesetzt, wobei der Körper keinerlei Formveränderungen erleidet. Sobald die Bewegung für einige Augenblicke sistiert, stellt sich die Spore dem spezifischen Gewicht entsprechend mit dem Fettropfen nach oben, wie ich es schon bei Synchytrium taraxaci beobachtet habe. Den Kern habe ich am lebenden Objekt nicht erkennen können. Am gefärbten Präparat sieht man in den Zoosporen hinter der dem Fettropfen entsprechenden Vakuole einen diffus gefärbten Kern; weitere Details, insbesondere über die Art des Geißelursprungs, habe ich nicht feststellen können.

Die Zoosporen setzen sich nach kurzer Zeit fest, und zwar häufig an derselben Cylindrocystis-Zelle, an der ihr Mutter-Zoosporangium saß; sie schwimmen dabei einige Zeit wie suchend an der Zelle entlang, indem sie sich seitlich an ihr entlang schieben, und nur selten mit dem Vorderende darauf zustoßen. Tatsächlich erfolgt auch die Festsetzung auffälligerweise nicht mit dem Vorder- oder Hinterende, sondern seitlich. In Fig. 16 sind zwei an ihrem Fettropfen als solche kenntliche Zoosporen abgebildet, die eine von oben, die andere von schräg oben gesehen; jede hat mit einem stumpfen, seitlichen Fortsatz die Cylindrocystis-Membran durchbohrt. Die Geißel in Fig. 16b war unbeweglich und es war durch anlagernde Bakterien- und Detritusmassen schwer, sie mit Sicherheit zu erkennen.

Neben den bisher beschriebenen Formen findet man nun sehr häufig kleinere oder auch manchmal schon etwas größere Zellen, die außer dem intramatrikalen Bläschen mit den davon ausgehenden Hyphen auch noch eine wohl ausgebildete, starke extramatrikale Hyphe haben (Figg. 22, 23). Da es mir nicht gelang, den Ablauf der Vorgänge kontinuierlich zu verfolgen, dauerte es längere Zeit, bis ich über die Deutung dieser Gebilde als männliche Individuen ins klare kam. Man findet sie häufig in größerer Zahl an einer Zelle dicht nebeneinander sitzend. Sie haben meistens eine Größe von etwa 4 μ und entsprechen bis auf die extramatrikale

Hyphe den vorher beschriebenen, nur daß ihr Protoplasma dichter ist nnd häufig einige stärker lichtbrechende Körnchen enthält. Die Hyphe ist etwa 1 μ dick und kann eine Länge von etwa 20 μ erreichen; sie ist nicht septiert und steht mit dem Zellkörper in offener Kommunikation. Manchmal werden auch Hyphen nach zwei entgegengesetzten Richtungen gebildet (Fig. 25). Die größeren Zellen mit extramatrikaler Hyphe (Fig. 24) sind wohl so zu deuten, daß es sich um ursprünglich männliche Zellen handelt, die nicht znr Kopulation gelangt sind und die sich dann zu der gewöhnlichen vegetativen Form weiterentwickelt haben; für die Richtigkeit dieser Annahme spricht, daß man auch entleerte Sporangien mit extramatrikaler Hyphe finden kann (Fig. 26).

Das normale Verhalten ist jedoch, daß die Hyphe mit einer weiblichen Zelle verschmilzt und so zum Kopulationsschlauch wird (Fig. 27). Den Vorgang der Verschmelzung selbst habe ich nicht beobachtet und weiß nicht, ob sich die weibliche Zelle aktiv durch Bildung eines Empfängnishügels beteiligt, wie es in Fig. 27 den Anschein hat. Auch kann ich bisher kein Merkmal angeben, wonach vor Beginn der Kopulation die weibliche Zelle im Leben von den größeren vegetativen Zellen zu unterscheiden wäre. Gewöhnlich sind außer dem einen zur Kopulation gelangten Mikrogameten auch noch die Hyphen anderer männlicher Zellen in der Nähe, doch habe ich niemals das Vorkommen einer Doppelbefruchtung mit Sicherheit beobachtet. Mit Beginn der Verschmelzung wird der Inhalt des Makrogameten undurchsichtiger durch die stärkere Vermehrung der lichtbrechenden Körnchen, die dann bald zu großen, stark lichtbrechenden Tropfen zusammenfließen (Fig. 28). Gleichzeitig verdichtet sich die Membran des Makrogameten und schließt sich auch gegen den Kopulationsschlanch wieder ab, und zwar häufig noch bevor der gesamte Inhalt des Mikrogameten übergetreten ist. Diesen jüngeren Stadien begegnet man ziemlich selten, meistens findet man die fertigen Zygoten (Fig. 29). Diese sind etwa 10 μ groß nnd sind ausgezeichnet durch eine etwa 1 μ dicke, durchsichtige, ungefärbte Membran, die manchmal Andeutung von Schichtung zeigt. Die Oberfläche ist glatt. Die Cellulosereaktion mit Chlorzinkjodid ist negativ; auch mit Hämatoxylin bleibt die Membran nngefärbt. Das Innere der Zygote ist erfüllt von ungefärbten, stark lichtbrechenden, bis etwa 2 μ großen, rundlichen Körpern, die sich infolge der dichten Lagerung gegenseitig abplatten. Diese Körper sind wohl als Reservestoffe zu deuten und die Zygote macht im ganzen den Eindrnck einer Dauerzelle. Bei Zusatz von Jodtinktur

bleibt der Zellinhalt, wohl infolge der Undurchlässigkeit der Membran, ungefärbt. Außen haftet der Zygote der Kopulationsschlancb und der Mikrogamet an. Gewöhnlicb haftet Makro- und Mikrogamet derselben Wirtszelle an, docb können sie aucb jeder an einer eigenen Zelle sitzen (Fig. 32). Ob sicb derartige Dauerzellen auch ohne Kopnlation bilden können, ist mir zweifelhaft; ein einziges Mal habe icb eine solche Zelle mit dicker Membran und Reservestoffen geseben, an der ich keinen Kopulationsschlauch und Mikrogameten finden konnte; sie saß an einer leeren Cylindrocystis-Membran und könnte sich also bei eintretendem Nahrungsmangel gebildet haben, doch ist es auch möglich, daß die fehlenden Teile bei der Präparation abgerissen waren.

Beobachtet man die Zygoten in der feuchten Kammer oder nnter dem mit Wachs abgeschlossenen Deckglas, so sieht man nach 2—3 Tagen unter Verdünnung der Membran die Reservestoffkörperchen weniger stark lichtbrechend werden (Fig. 30) und dann zn einer homogenen, von einem grobmaschigen Netz dunklerer Furchen durcbzogenen Masse zusammenfließen (Fig. 31). In frisch entnommenen Proben habe ich derartig veränderte Zygoten nicht gefunden, nnd ich würde die Vorgänge als Absterbeerscheinungen deuten, wenn nicht die gefärbten Präparate von frisch der Kultur entnommenem Material bäufig ähnlicbe Bilder lieferten. Über die weitere Entwicklung der Dauerzellen besitze ich keine Beobachtung am lebenden Objekt; doch habe ich in meinen gefärbten Präparaten ein einziges Mal eine allseitig geschlossene Zelle gefunden, die sich dnrch den anhaftenden Kopulationsschlauch und Mikrogameten als Zygote erwies (Fig. 43), und in der einige kleine, sichelförmige Zoosporen mit einem Kern und Vaknole lagen, woraus also hervorgeht, daß in der Zygote Zoosporen gebildet werden.[1]) Solche sichelförmige, am Vorder- und Hinterende zugespitzte Zoosporen habe ich in meinen gefärbten Präparaten auch frei gefunden und sehr wohl von den zuerst beschriebenen vegetativen Zoosporen unterscheiden können.

Im gefärbten Präparat erweisen sich die Mikrogameten als einkernig (Fig. 38). Auch die Makrogameten haben einen einzigen,

---

[1]) Diesen Befund habe ich leider nur ein einziges Mal machen können und er bedarf der aufklärenden Nachuntersuchung, denn das Vorkommen zweier Arten Zoosporen ist doch auffällig. Man könnte, woranf Herr Prof. WILLE mich brieflich hingewiesen hat, an einen Parasiten des Zygorhizidium denken; wurde doch auch Olpidium Dichsonii ursprünglich für Fortpflanzungsorgane des Ectocarpus angesehen.

großen, kompakten Kern (Fig. 39). Die Makrogameten sind im gefärbten Zustand von den vegetativen Zellen ganz wohl zu unterscheiden durch ihr bedeutend weniger dichtes, großalveoläres Protoplasma und durch ihre Einkernigkeit, während die vegetativen Zellen gleicher Größe schon vielkernig sind. Weiterhin kann man am gefärbten Präparat sehen, wie diese beiden einkernigen Zellen durch den Kopulationsschlauch miteinander in offener Verbindung stehen (Fig. 40) und daß später die Zygote zweikernig ist und ihre Membran wieder geschlossen (Fig. 41). In beiden Figuren tritt schon der lockere Bau des Makrogameten bzw. der jungen Zygote hervor, zurückzuführen auf die Auflösung der am lebenden Objekt beobachteten Reservestoffe. Ein Zwischenstadium mit dem Mikrogametenkern im Kopulationsschlauch habe ich nicht auffinden können, doch ist wohl auch so schon die sexuelle Natur der Vorgänge nicht anzuzweifeln. Der an den Figuren hervortretende Größenunterschied zwischen männlichem und weiblichem Kern beruht vielleicht nur auf einem Zufall, wenngleich ich ihn auch an einigen anderen Exemplaren bemerkt habe; es wäre dies sehr auffällig, da doch allgemein der Satz gilt, daß bei Geschlechtsvorgängen die beteiligten Kerne an Masse gleich seien. Eine Verschmelzung der beiden Kerne habe ich nicht mit Sicherheit beobachten können; etwas ältere Zygoten mit dickerer Membran und stärker vakuolisiertem Inhalt zeigen häufig noch deutlich zwei einander mehr oder weniger genäherte Kerne. In anderen Zygoten dagegen ist ein deutlicher Kern überhaupt nicht zu finden; diese Zygoten sind, entsprechend den im Leben beobachteten Exemplaren wie Figg. 30 und 31, so stark vakuolisiert, daß das Plasma nur ein sehr weitmaschiges Netzwerk bildet mit verdickten und etwas stärker gefärbten Knotenpunkten, die vielleicht als Kerne anzusprechen sind (Fig. 42). Eine solche Vielkernigkeit der Zygote wäre ja für die Zoosporenbildung auch vorauszusetzen.

Auf welchen Bedingungen das Eintreten der vegetativen oder der sexuellen Entwicklung beruht, kann ich nicht angeben, da beide Formen in derselben Kultur gleichzeitig nebeneinander vorkamen. Über den zeitlichen Ablauf der Vorgänge kann ich nur soviel aussagen, daß die vegetative Entwicklung 3 Tage zu dauern scheint, wenigstens hat es einmal, als ich besonders starke Zoosporenbildung gesehen hatte, 3 Tage gedauert, bis dies wieder eintrat.

Die Infektion der Cylindrocystis mit Zygorhizidium war sehr stark, besonders an dem dünnen Häutchen, das auf der Oberfläche des Wassers schwamm; hier waren über die Hälfte aller

Cylindrocystis von dem Parasiten befallen, und zwar saßen gar nicht selten 4—6 Parasiten an einer Zelle. Manchmal hatte das Plasma der Wirtszelle in der Nähe der Anheftungsstelle des Zygorhizidium einen Defekt (Fig. 8), andere Male jedoch konnte man auch bei starkem Befallensein keine Veränderung wahrnehmen. Nur die beiden Pyrenoide scheinen regelmäßiger und zwar schon ziemlich frühzeitig in Mitleidenschaft gezogen zu werden. Sie bekommen zunächst verwaschene Konturen und sind häufig in den befallenen Zellen am frischen wie gefärbten Präparat überhaupt nicht zu erkennen. Häufig sah ich leere Cylindrocystis-Membranen mit anhaftenden Parasiten, doch möchte ich das Absterben nicht auf die Infektion zurückführen, da auch nicht befallene Exemplare der Cylindrocystis abgestorben waren.

Bisher ist meines Wissens als Parasit von Cylindrocystis unter den Chytridiaceen nur Rhizophyton gibbosum Zopf bekannt, und auch Lemmermann führt in seiner Zusammenstellung der auf Algen parasitierenden Pilze nur dieses an; eine Verwechselung mit dem hier beschriebenen Zygorhizidium ist nach Zopf's Beschreibung und Abbildungen ausgeschlossen. Die neue Gattung nimmt unter den Sporochytrien eine Sonderstellung ein durch die außerdem bisher nur bei Polyphagus bekannte Sexualität. In seinen vegetativen Stadien gleicht Zygorhizidium bis auf die Deckelbildung der Sporangien der Gattung Rhizidium, in dessen Nähe es vielleicht zu stellen ist; andererseits besteht eine gewisse Ähnlichkeit mit Chytridium lagenaria Schenk (namentlich mit den Abbildungen seiner zweiten Publikation), mit dem es auch die Deckelbildung der Zoosporangien gemein hat.

Ich will nun noch kurz betrachten, welches Ergebnis diese Untersuchungen, die angestellt wurden, wie das Material sich zufällig bot, für die Krebsforschung haben. Wir haben gesehen, welche Einwirkungen die Chytridiaceen ausüben können, Schädigung der Pyrenoide, Abtötung und Sprengung der Wirtszelle, Hypertrophie der befallenen wie der Nachbarzellen, Kerndegeneration; Vorgänge aber, die mit der Karzinomentwicklung irgendwie vergleichbar wären, sind nicht vorhanden. Will man nun die Chytridiaceen mit einem supponierten Krebsparasiten vergleichen, so können hier nur die verschiedenen Krebseinschlüsse in Betracht kommen; zwischen diesen und den untersuchten Chytridiaceen kann ich keinerlei morphologische Ähnlichkeit finden. Eine Vergleichung des Entwicklungsganges läßt ebenfalls im Stich, da über einen etwaigen Entwicklungsgang der Krebseinschlüsse nichts Sicheres bekannt ist. Ich muß also nach

wie vor zu dem Schluß kommen, daß bisher keine Anhaltspunkte dafür vorliegen, den Krebs mit den Chytridiaceen in Zusammenhang zu bringen.

Vorstehende Untersuchungen wurden während eines Studienaufenthaltes im botanischen Laboratorium der Universität zu Christiania begonnen unter der sehr freundlichen und lehrreichen Anleitung von Herrn Prof. Wille; es ist mir eine Freude, Herrn Prof. Wille hier nochmals meinen herzlichen Dank aussprechen zu können.

Meinem verehrten Chef, Herrn Geheimrat von Leyden, bin ich für die Gewährung des notwendigen Urlaubs zu ergebenstem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

de Bary & Woronin: Berichte d. naturf. Gesellsch. Freiburg 1863.

Behla: Die pflanzenparasitäre Ursache des Krebses und die Krebsprophylaxe. Berlin 1903.

Fischer: Phycomycetes in Rabenhorst's Kryptogamenflora. IV, 1. Leipzig 1892.

Hauck: Notiz über Rhizophydium Dicksonii Wright. Österr. Bot. Zeitschr. Jahrgang 28. 1878.

Lemmermann: Die parasitischen und saprophytischen Pilze der Algen. Abh. Nat. Ver. Bremen Bd. XVII Heft 1. 1901.

Loewenthal: Tierversuche mit Plasmadiophora brassicae und Synchytrium taraxaci nebst Beiträgen zur Kenntnis des letzteren. Zeitschr. f. Krebsforschung. Bd. III Heft 1.

Ludwig: Der Farbstoff der Synchytrium-Gallen von Anemone nemorosa. Verh. Bot. Ver. der Prov. Brandenburg. Jahrg. 31. 1889.

Rattray: Note on Ectocarpus. Transact. Roy. Soc. of Edinburgh Bd. XXXII. 1887.

Schenk: Algologische Mitteilungen. Verh. Phys.-med. Gesellsch. Würzburg Bd. VIII. 1858.

—: Über das Vorkommen kontraktiler Zellen im Pflanzenreiche. Würzburg 1858.

Schröter: Chytridineae in Engler und Prantl's Natürlichen Pflanzenfamilien. Leipzig 1892.

Steven, F. L. & A. C.: Mitosis of the primary nucleus in Synchytrium decipiens. Bot. Gazette Bd. XXXV. 1903.

Wille: Om nogle Vandsoppe. Videnskabsselskabets Skrifter. I. Math.-naturv. Kl. 1899. Christiania.

Wright: On a species of Rhizophydium parasitic on species of Ectocarpus, with notes on the fructification of the Ectocarpi. Transact. Roy. Irish Acad. Sciences Bd. XXVI. 1879.

Zopf: Nova Acta Acad. Leopold.-Carolinae Bd. LII. 1888.

Tafelerklärung.

Tafel VIII u. IX.

Die Figuren sind außer Fig. 15a sämtlich mit dem Abbé'schen Zeichenprisma entworfen und zwar bei folgenden Vergrößerungen: Fig. 1 Leitz Obj. VI Ocul. 0. Vergr. ca. 210. Fig. 7 Zeiss Apochr. Immers. 2,0 mm, Ap. 1,30, Comp.-Ocul. 4. Vergr. ca. 500. Fig. 5, 6, 11, 20, 32 Immers. 2,0, Comp.-Ocul. 8. Vergr. ca. 1000. Fig. 2—4 Immers. 2,0, Comp.-Ocul. 12. Vergr. ca. 1500. Alle übrigen Immers. 2,0, Comp.-Ocul. 18. Vergr. ca. 2250.

Fig. 1 u. 2. Synchytrium anemones auf Anemone nemorosa.

Fig. 1. Schnitt durch ein Anemonenblatt. Rechts die vergrößerten Epidermiszellen; die größte, erfüllt mit schaumigem Protoplasma, zeigt die charakteristische Kerndegeneration. Im Basalteil dieser Zelle ein Synchytrium mit stark gefärbter Membran. Jodgrün-Fuchsin.

Fig. 2. Kern eines Synchytrium, keine Kernmembran vorhanden. Der stark gefärbte Binnenkörper aus zwei Teilen bestehend, der Kern im übrigen schwächer gefärbt als das umgebende grobvakuoläre Protoplasma. Hämatoxylin.

Fig. 3—7. Olpidium Dicksonii in Pylaiella litoralis. Hämatoxylin.

Fig. 3. Junger einkerniger Parasit (rechts) neben dem Zellkern liegend, mit alveolärem Protoplasma und Pseudopodien.

Fig. 4. Junger vierkerniger Parasit (in der gezeichneten Ebene nur zwei Kerne sichtbar) in einem Gametangium von Pylaiella.

Fig. 5. Älterer Parasit, der die Wirtszelle ausgebuchtet hat. Er ist vielkernig mit grobmaschigem Protoplasma, noch ohne Membran. In der Wirtszelle Kern und Chromatophore.

Fig. 6. Kleines, in der Wirtszelle allseitig frei liegendes Exemplar in beginnender Umwandlung zum Zoosporangium. Dichtes, wandständiges Protoplasma mit kleinen, intensiv gefärbten Kernen, umgeben von einer zarten Membran.

Fig. 7. Das Zoosporangium hat die Wirtszelle gesprengt. Es hat durchweg seine eigene Membran und enthält zahlreiche wandständige, einkernige, vakuolisierte Zoosporen.

Fig. 8—43. Zygorhizidium Willei nov. gen., nov. spec. auf Cylindrocystis Brebissonii; Fig. 8—32 nach lebendem Objekt, Fig. 33—43 nach Fixierung mit Osmiumsäure und Sublimat-Alkohol und Hämatoxylinfärbung.

Fig. 8—12. Cylindrocystis (meist nur im Umriß gezeichnet) mit verschieden großen und verschieden geformten Exemplaren von Zygorhizidium. Fig. 8 ganz junger Parasit: Protoplasma der Wirtszelle zeigt eine Delle; Pyrenoide im Chromatophor nicht mehr nachweisbar. Fig. 12 Pyrenoid erhalten; der Parasit reicht mit seinen Rhizoiden bis zum retrahierten Protoplasma der Wirtszelle. Fig. 11 mehrere helle Flecke im Parasiten (Kerne?).

Fig. 13. Zoosporenbildung; innerhalb der Membran maulbeerartige Oberfläche, jedes der Höckerchen trägt ein stark lichtbrechendes Fetttröpfchen.

Fig. 14. Frühzeitige Andeutung der Deckelbildung.

Fig. 15. Freie Zoosporen; a seitlich gesehen. Man sieht am Vorderende das über die Oberfläche vorspringende Fetttröpfchen und die charakteristische Asymmetrie. b von oben gesehen.

Fig. 16. Die Zoosporen infizieren eine Cylindrocystis-Zelle, sich seitlich festheftend.

Fig. 17 u. 18. Leeres Zoosporangium mit Deckel; Deckel in Fig. 18 von der Konkavseite gesehen.

Fig. 19. Leeres Zoosporangium mit ungewöhnlich starkem intramatrikalen Mycel.

Fig. 20. Leeres Zoosporangium mit seitlicher Öffnung.

Fig. 21. Leeres Zoosporangium mit zwei Öffnungen.

Fig. 22 u. 23. Männliche Exemplare (Mikrogameten) mit langer, als Kopulationsschlauch dienender extramatrikaler Hyphe.

Fig. 24. Männliches Exemplar, das sich vegetativ weiter entwickelt hat.

Fig. 25. Mikrogamet mit zwei extramatrikalen Hyphen.

Fig. 26. Leeres Zoosporangium, das sich durch seinen leeren Anhang als aus einem vegetativ weiter entwickelten, ursprünglich männlichen Exemplar hervorgegangen erweist.

Fig. 27. Kopulation; Makro- und Mikrogamet in offener Verbindung miteinander.

Fig. 28. Die Membran der Zygote hat sich gegen den Kopulationsschlauch abgeschlossen; beginnende Anhäufung von Reservestoffen.

Fig. 29. Fertige Zygote mit dicker Membran und erfüllt mit stark lichtbrechenden Körpern (Reservestoffen).

Fig. 30. Dieselbe Zygote 3 Tage später. Die Membran ist dünner geworden, die Reservestoffe weniger stark lichtbrechend.

Fig. 31. Zygote nach 4tägiger Beobachtung. Das Protoplasma bildet dünne Stränge zwischen den zusammengeflossenen Reservestoffen.

Fig. 32. Zygote und leerer Mikrogamet sitzen zwei verschiedenen Wirtszellen auf.

Fig. 33—36. Vegetative Entwicklung, Kernvermehrung. Alveolärer Bau des Protoplasma am deutlichsten an den jüngeren Exemplaren.

Fig. 37. Vor Austritt der Zoosporen. Zoosporen durch gegenseitigen Druck abgeplattet, haben jede einen wandständigen Kern und eine Vakuole (aufgelöster Fettropfen).

Fig. 38. Mikrogamet.

Fig. 39. Makrogamet, mit großalveolärem Protoplasma und im Gegensatz zu vegetativen Exemplaren gleicher Größe einkernig.

Fig. 40. Kopulation, entsprechend Fig. 27; Makro- und Mikrogamet stehen in offener Verbindung, doch hat die Vereinigung noch nicht begonnen.

Fig. 41. Entspricht etwa Fig. 28. Die Zygote hat sich gegen den nicht ganz entleerten Mikrogameten abgeschlossen, sie ist zweikernig, ihre Membran noch nicht verdickt.

Fig. 42. Entspricht etwa Fig. 31. Das Protoplasma bildet einen dünnen Wandbelag und weitmaschiges Netzwerk mit verdickten und stärker gefärbten Knotenpunkten (Kernen).

Fig. 43. Zygote mit kleinen, einkernigen, jederseits zugespitzten Zoosporen.

(Aus dem zoologischen Institut der Universität Gießen.)

Beiträge zur Kenntnis der Kernverhältnisse bei den in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien.

Von

Richard Gonder (Gießen).

(Hierzu Tafel IX—XI.)

Im Sommer vorigen Jahres war ich mit Protozoenstudien beschäftigt. Dabei erhielt ich durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Privatdozenten Dr. Hartmann einige Präparate von *Benedenia elegans* (*Opalinopsis*), einem parasitischen Infusor, welches Foettinger 1881 beschrieben hat. Ein eingehenderes Studium der eigenartigen Kernverhältnisse dieser Parasiten ließ mich erkennen, daß sich die Kerne zu einem typischen Chromidialnetz auflösen, eine Kernkonfiguration, die durch die neueren Untersuchungen R. Hertwig's und Schaudinn's in der Zellforschung eine besondere Bedeutung erlangt hat. Die Kernveränderungen unserer Infusorien führen zur Bildung eines Chromidialapparates, der unter Umständen zur Fortpflanzung in Beziehung tritt. Den Kreis dieser Kernmodifikationen im vegetativen Leben unserer Infusorien sowie ihre Beziehungen zur Fortpflanzung aufzudecken, war das Ziel der Arbeit.

Um diese Tiere lebend beobachten zu können und um mir geeignetes und reiches Material zu verschaffen, besuchte ich im Herbst 1903 (September und Oktober) die zoologische Station zu Neapel, wo ich jederzeit Cephalopoden, die Wirtstiere unserer Infusorien, in reichlichem Maße erhielt. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle allen Herren der Station, insbesondere Herrn Dr. Lobianco, für das

Entgegenkommen und für die Unterstützung bei der Beschaffung von Material meinen verbindlichsten Dank auszudrücken. Herrn Geh. Rat Prof. Dr. DOHRN bin ich zum wärmsten Dank verpflichtet für Überweisung von Mitteln, welche mir einen Aufenthalt am Meere ermöglichten.

Die Arbeit wurde im zoologischen Institut der Großherzoglichen Landesuniversität Gießen hergestellt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. SPENGEL, sowie seinem Assistenten, Herrn Privatdozenten Dr. HARTMANN, für das mir stets entgegengebrachte Interesse und die Unterstützung meinen innigsten Dank hiermit auszusprechen.

Historisches.

Zum erstenmal wurden diese parasitischen Infusorien der Cephalopoden von FOETTINGER im Jahre 1881 beschrieben; seit dieser Zeit liegen meines Wissens keine Untersuchungen über dieselben vor. Es sei daher kurz einiges über die für uns wichtigsten Ergebnisse FOETTINGER's gesagt. FOETTINGER beschreibt diese Parasiten als mittel- bis ansehnlich große (bis 1,5 mm) holotriche Infusorien, welche je nach der Art in den Nieren, der Leber oder im spongiösen Körper bestimmter Cephalopoden meist in Begleitung von Dicyemiden schmarotzen. Er unterscheidet zwei Gattungen, eine von langgestreckter, cylindrischer Form, *Benedenia*, und eine kleine von rundlich bis ovaler Form, *Opalinopsis*. Die Bewimperung ist bei allen eine vollständig gleichmäßige mit Ausnahme einer Spezies, *Benedenia coronata*, deren vorderer kopfartig angeschwollener Teil mit einem Kranze längerer Cilien ausgestattet ist. Kontraktile Vakuolen fehlen, ebenso sollen diese Infusorien ganz und gar eines Cytostoms entbehren, weshalb FOETTINGER sie zu der Familie der Opalininen stellt. — Was die Vermehrung betrifft, so sollen sie sich nach der Angabe dieses Autors durch einfache Teilung (*Opalinopsis*) oder durch einfache oder kettenartige Knospung fortpflanzen. Die Kernverhältnisse erkannte FOETTINGER auch schon sehr richtig. Er beschreibt brockenförmige, band- und fadenförmige Kernfragmente, die unter Umständen anastomosieren. Der Kernsubstanz schreibt er eine Veränderlichkeit und amöboide Beweglichkeit zu. Sehr interessant ist es, daß FOETTINGER bei der kleinen Art, *Opalinopsis sepiolae*, schon die netzartige (wohl richtiger spongiöse) Anordnung

der Kernsubstanzen beobachtet hat nnd sie als besondere Eigentümlichkeit hervorhebt. Meine Aufgabe suchte ich in der Hauptsache darin, diese verschiedenen Kernstadien eingehender zn stndieren, um durch Übergänge ihren Zusammenhang miteinander festzustellen.

Systematisches.

Foettinger reiht seine Infusorien, wie schon gesagt, der Familie der Opalininen ein, wobei er zwei Gattungen unterscheidet: *Benedenia* (*sp. elegans* und *coronata*) und *Opalinopsis* (*sp. sepiolae* und *octopi*). Schon damals, als Foettinger diese Namen aufstellte, war jedoch nach unseren Nomenklaturgesetzen der Name *Benedenia* nicht mehr zulässig gewesen, da derselbe schon vorher vergeben worden war. 1858 hat Diesing einen Wurm, 1864 Gray ein Sängetier und 1875 Ai. Schneider ein Coccidinm mit dem Namen *Benedenia* bezeichnet. Bütschli vereinigt in seiner Monographie der Protozoen in Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs alle die erwähnten Spezies in einer einzigen Gattung, die er *Opalinopsis* nennt. Durch meine Untersuchungen bin ich zu der Ansicht gekommen, daß man wohl eine Aufteilung dieser Gattung vornehmen muß. Für die kleine Form nnserer Parasiten behalte ich den von Foettinger aufgestellten Namen *Opalinopsis* bei. Dagegen schlage ich vor, die von Foettinger unter den Gattungsnamen *Benedenia* vereinigten Spezies *B. elegans* und *coronata*, die von Bütschli zu *Opalinopsis* gezogen werden, mit dem neuen Gattungsnamen *Chromidina* zu bezeichnen; *Chromidina* deshalb, weil es bei diesen Infusorien zur Ausbildnng eines typischen Chromidialnetzes kommt, wie es in dieser Weise, soviel mir bekannt, bei Infusorien noch nicht beobachtet worden ist.

Material und Untersuchungsmethoden.

Meine Untersuchungen erstrecken sich über alle von Foettinger 1881 beschriebene Infusorien mit Ausnahme der kleinen Form *Opalinopsis octopi* aus *Octopus tetracirrhus*, welche aber wohl mit *Opalinopsis sepiolae* identisch sein dürfte. Man muß möglichst darauf bedacht sein, wenn nicht lebende, so doch recht frische Cephalopoden zu erhalten. Im toten Material, das einige Stunden im Meerwasser gelegen, fand ich meistens nichts mehr von Infusorien, von Dicyemiden

nur noch einige wenige. Vielleicht übt das Meerwasser den verderblichen Einfluß aus, indem dasselbe in die Organe eindringt und die Infusorien zum Absterben bringt. Ferner scheinen die Cephalopoden je nach dem Aufenthaltsort verschieden stark infiziert zu sein. So fand ich z. B. in der Leber von *Sepiola rondeletii* nur dann Infusorien, wenn jene Sepien von den Fischern an einem bestimmten Platze des Golfes von Neapel gefischt worden waren. Durchschnittlich enthielt eine von 5—6 Sepiolen in der Leber Parasiten.

Um die Infusorien möglichst lange lebend zu erhalten, muß man sie in die Nieren- resp. Leberflüssigkeit bringen, in welcher sie auch unter natürlichen Bedingungen wenigstens einige Zeit leben können. Kochsalzlösungen von verschieden prozentischem Gehalt, Meerwasser etc. waren alle von verderblichem Einfluß auf die Organismen. Nur *Opalinopsis sepiolae* verträgt Meerwasser längere Zeit, während die übrigen Infusorien darin schnell absterben. Für die Beobachtung brachte ich unter ein Deckglas einige Tropfen der Nieren- oder Leberflüssigkeit und schloß dann möglichst rasch das Deckglas mit Paraffin oder Vaselin gegen die Außenwelt ab. Auf diese Weise hielten sich *Chromidina elegans* und *Chromidina coronata* einige Stunden lang lebend, *Opalinopsis sepiolae* sogar 24—30 Stunden. Ich hoffte, auf diese Weise vielleicht Befruchtung oder eine andere Art der Fortpflanzung als die der einfachen Zellteilung oder Knospung beobachten zu können, was mir leider nicht gelang.

Es wäre ja denkbar, daß ein Befruchtungsvorgang durch die parasitische Lebensweise unterdrückt worden sei, wofür die eigenartige Knospung der *Chromidina* sprechen könnte. Wahrscheinlicher oder ziemlich sicher ist jedoch, daß eine Befruchtuug vorkommt, vielleicht an ein anderes Entwicklungsstadium geknüpft. Die Infusorien, wie sie in der Leber und den Nieren der Cephalopoden leben, vertragen, wie schon gesagt, das Meerwasser schlecht, bewerkstelligen also offenbar eine Neuinfektion eines Cephalopoden nicht in diesem vegetativen Zustande. Nur Teilungsvorgänge bei *Opalinopsis sepiolae* und Knospung bei *Chromidina* konnte ich mehrmals verfolgen. Was Foettinger als Konjugation beschrieb bei *Opalinopsis sepiolae*, scheint mir eher einfache Zellteilung gewesen zu sein. Foettinger beobachtete den Vorgang, den er als Konjugation beschrieb, nur einmal und konnte ihn nicht vollständig verfolgen, da die Tiere abstarben. Die Abbildungen geben vollständig das Bild eines einfachen Teilungsvorganges, wie ich ihn oft beobachten konnte.

Da am lebenden Infusor die Kernverhältnisse nicht zu verfolgen sind, war ich darauf bedacht, mir möglichst gute Präparate zu ver-

schaffen. Nur eine Kernform, diejenige, welche in Fäden und Schlingen das Alveolenwerk der Zelle durchsetzt, vermag man am lebenden Tier einigermaßen gut vom Protoplasma zu unterscheiden. Meist sind die Tiere undurchsichtig und erscheinen oft schwärzlich, opak. Von den mit ihnen zusammenlebenden Dicyemiden sind sie durch diese Beschaffenheit sofort zu unterscheiden. Die Zelle ist angefüllt von Fett-, Öltröpfchen und anderen Stoffwechselprodukten, welche die Kernsubstanz, wenn sie sich in vollends aufgelöstem Zustande oder in der Brockenform befindet, verdecken oder nicht mehr unterscheidbar machen. Die Vakuolen des Plasmas sind meist gut zu erkennen.

Sehr gute Erfolge erzielte ich durch Ausstrichpräparate, die es ermöglichten, unter einem Deckglas eine große Anzahl von Infusorien von den kleinsten jugendlichen Formen bis zu den größten zu vereinigen. Die Ausstriche wurden in der Weise hergestellt, daß ein Tropfen der Nieren- resp. Leberflüssigkeit auf das gut gereinigte Deckglas gebracht wurde, nachdem dasselbe gewöhnlich vorher mit etwas Körperflüssigkeit des Cephalopoden befeuchtet worden war, damit der Tropfen auf dem Glas sich besser verteilte. Hierauf wurde das Präparat rasch fixiert. Es wurden hierzu verwendet Osmiumdampf, Hermann'sche oder Flemming'sche (stark) Lösung, Sublimat-Alkohol ($^2/_3$ konz. Sublimatlösung, $^1/_3$ absoluter oder 70proz. Alkohol), Zenker'sche Lösung, Osmiumsäure, Sublimateisessig, Formol, doch fixierten die vier zuletzt genannten Flüssigkeiten nicht so gut. Das Deckglas ließ ich hierbei mit der Schichtseite auf die ein wenig erwärmte Fixierflüssigkeit fallen, wobei die ganze Fläche gleichzeitig mit der Oberfläche der Flüssigkeit in Berührung kommen muß, da bei schrägem Auffallen der ganze Ausstrich wieder abfließen kann. Man darf die Präparate nicht allzu lange fixieren, besonders nicht in den Osmiumgemischen, und muß sie gut auswaschen. Gefärbt wurden sie in Boraxkarmin (Grübler'sche Tabletten, welche in $^1/_2$ Teil Wasser (heiß) und in $^1/_2$ Teil 50proz. Alkohol gelöst wurden), in Pikrokarmin, Hämalaun (Mayer). Sehr brauchbar wurden Doppelfärbungen, indem mit Boraxkarmin oder Pikrokarmin vorgefärbt und mit Eisenhämatoxylin oder Delafield'schem Hämatoxylin nachgefärbt wurde. Letztgenannte Hämatoxyline (nach Heidenhain und Delafield) gaben auch ohne Vorfärbung vorzügliche Bilder. Hat man in Osmium oder in Osmiumgemischen zu stark fixiert, so werden die Präparate in Eisenhämatoxylin zu schwarz, so daß man wenig Differenzierungen sieht oder auch leicht Chromatin und andere Substanzen verwechseln kann. Delafield'sches Hämatoxylin färbte

in allen Fällen gut; ich brachte bei dieser Färbnng die Präparate gewöhnlich in eine stark verdünnte Lösnng, in welcher sie dann nach ca. 48 Stunden schön gefärbt waren, oder ich überfärbte und zog den überflüssigen Farbstoff mit Salzsäure-Alkohol wieder ans. Anßer Ansstrichpräparaten wurden auch Schnittpräparate hergestellt. Auch wnrden einzelne Infusorien isoliert und in Nelken- oder Cedernöl gebracht, so daß sie sich drehen ließen. Alle hierzu verwandten Infusorien waren in obengenannten Lösnngen fixiert nnd gefärbt. Die Ausstrich- nnd Schnittpräparate wurden in Kanadabalsam eingebettet oder auch in Nelken- und Cedernöl, weil diese Öle die Präparate sehr schön aufhellen.

Lebensweise, Bau und Systematik.

Den Angaben Foettinger's über die Lebensweise dieser Parasiten sei noch einiges hinzugefügt. *Chromidina elegans* fand ich in den Nieren und Venenanhängen von *Sepia elegans* fast ansschließlich in Begleitung von Dicyemiden, nur sehr selten allein, vielleicht fünf- bis sechsmal unter 80—100 Fällen. Sie waren auch nur anf Nieren und Venenanhänge beschränkt, niemals fand ich sie im spongiösen Körper, in der Leber oder in anderen Organen. Anßer in *Sepia elegans* lebt dieses Infusor auch noch in *Illex coindetii* ebenfalls mit Dicyemiden zusammen, nur einmal traf ich es als Alleinbewohner. *Chromidina coronata*, welche Foettinger in *Octopus vulgaris* fand, parasitiert auch in den Nieren von *Eledone aldrovandii:* diese Infusorien sind also nicht nur auf eine Wirtspezies beschränkt. Wie schon erwähnt, glanbe ich auch, daß *Opalinopsis octopi*, die Foettinger in der Leber von *Octopus tetracirrhus* vorfand, mit *Opalinopsis sepiolae*, welche in der Leber von *Sepiola rondeletii* parasitiert, identisch sind. Die Beschreibung und Abbildung, welche Foettinger von diesem Infusor gibt, berechtigen hierzu.

Die Chromidinen bewegen sich entweder frei in der Nierenflüssigkeit herum, indem sie, sich um ihre Längsachse drehend, sich mit dem kopfartig angeschwollenen Ende nach vorwärts bewegen. Der Verlanf der Cilien, die den Körper in schiefem Winkel zur Längsachse nmkreisen, kommt ihnen bei dieser schraubenartigen Bewegungsweise sehr zn statten. Oder sie stecken wie die Dicyemiden mit dem Kopf (ich verstehe darunter den vorderen aufgetriebenen Teil des langgestreckten Körpers) in den Epithelzellen und führen mit dem freien Teil ihres Leibes schlängelnde Bewegungen ans. Sie leben ebenso wie die Dicyemiden anf Kosten der Nierenflüssigkeit resp. des Nierengewebes, das bei großer Anzahl der Parasiten

fast vollständig zerstört wird. Die Leberparasiten (Opalinopsis) schwimmen frei in der Leber umher und füllen dieselbe oft ganz und gar aus, so daß man vom Lebergewebe fast nichts mehr sieht. Die Leber hat dann ihre schöne, frische, braungelbe oder rotgelbe Farbe verloren; man erkennt sofort äußerlich an der fahlgelben, weißlichen Farbe, daß sie infiziert ist. Außerdem erscheint sie in diesem Zustand ein wenig zusammengefallen.

Auf eine äußere Beschreibung unserer Parasiten brauche ich hier nur kurz einzugehen, da dieselbe schon in genügender Weise von Foettinger geliefert ist. *Chromidina elegans* ist ein holotriches Infusor, dessen langgestreckter Körper eine Länge von 0,5, 0,8—1,5, manchmal 2 mm erreicht bei einer Breite von 0,007 bis 0,02, ja bis 0,05 mm, wenn der vordere angeschwollene Teil des Körpers ausgenommen wird. Die Cilien bedecken in den bekannten Cilienreihen gleichmäßig die Körperoberfläche. *Chromidina coronata* unterscheidet sich von *Chromidina elegans* durch den Wimperkranz am Kopfe (Tafel IX Fig. 17). Derselbe besteht aus einer einfachen Cilienreihe, welche den Kopf in der Mitte umkreist und sich nur durch längere Cilien auszeichnet. Gewöhnlich erlangen diese Chromidinen nicht die Größe derjenigen aus *Sepia elegans*. Im übrigen stimmen beide Arten, was Bau, Knospung und Kernverhältnisse anbetrifft, vollständig überein. *Opalinopsis sepiolae* unterscheidet sich von den Chromidinen in der Hauptsache durch die Körpergestalt. Der Körper ist rundlich, kurz oder länglich oval und schwankt in der Länge zwischen 40 und 80 μ. —

Das Protoplasma unserer Infusorien weist einen schönen alveolären Bau auf. Das Alveolensystem verändert aber seinen Charakter mit den Kernveränderungen. Ist der Kern zerbröckelt oder vollends zerfallen, — ein Chromidialapparat ausgebildet — so ist das Protoplasma von großmaschigem alveolärem Bau. Besonders auffällig werden diese Riesenvakuolen bei *Opalinopsis sepiolae*. Eine Pellicula ist vorhanden, unter welcher sehr schön auf Quer- oder Längsschnitten der Alveolarsaum (Bütschli) zu erkennen ist. Ausführlicher auf den Bau des Protoplasmas, auf Basalkörperchen, Cilien etc. einzugehen, habe ich an dieser Stelle keine Veranlassung. Nur über das Vorkommen eines Zellmundes bei *Chromidina elegans* muß ich etwas erwähnen. Diese Infusorien haben ihren parasitären Charakter vielleicht in verhältnismäßig phyletisch junger Zeit angenommen, wofür das zeitweilige Auftreten eines Cytostoms oder eines rudimentären Cytostoms sprechen kann. Meistens findet man diese Infusorien, die in den Nieren von *Sepia elegans* leben, ohne irgend-

welche Andeutung eines Zellmundes. Nur bei genauerer Betrachtung nimmt man bei einer kleinen Anzahl einen Spalt am äußersten Ende oder an einer anderen Stelle des Vorderendes wahr. Schließlich fand ich aber auch Chromidinen mit vollkommen entwickeltem Cytostom (Taf. IX Fig. 13—16), letztere waren allerdings seltener. Ich glaube kaum, daß diese letztere Form (Infusorien mit Cytostom) eine besondere Spezies ist, denn das Wimperkleid, die ganze Gestalt, der Kernapparat, die Bewegungen etc. weisen keinerlei Unterschiede auf gegenüber den sich am häufigsten vorfindenden Infusorien ohne Cytostom, mit welchen sie ja auch zusammenleben. Auf Dauerpräparaten fand ich auch Übergänge vom Cytostom zum einfachen Spalt und bis zum vollständigen Schwund desselben. Von einem Kunstprodukt, durch Quetschen oder beim Ausstreichen hervorgerufen, kann nicht die Rede sein. Die Abbildung (Taf. IX Fig. 16) ist nach dem Leben gezeichnet; ich glaubte, als ich noch nicht die Übergänge kannte, eine neue Art vor mir zu haben. Jetzt hege ich die Vermutung, daß diese Infusorien die von ihren sicherlich freilebenden Vorfahren ererbte Eigenschaft, ein Cytostom auszubilden, trotz des Parasitismus noch nicht völlig verloren haben. Ist man einmal auf den Zellmund resp. den rudimentären Zellmund aufmerksam geworden, so wundert man sich, daß man anfangs ein derartiges Organell übersehen konnte. Die Cilienreihen, die am lebenden Tier wie an Präparaten sehr schön zu verfolgen sind, umkreisen den Kopf gleichmäßig. Wo ein Zellmund oder ein Spalt ausgebildet ist, da erstrecken sie sich in denselben hinein.

Bisher rechnete man die von Foettinger beschriebenen parasitischen Infusorien aus Cephalopoden allgemein zu den Opalinen, indem einmal das Fehlen pulsierender Vakuolen, die Kernverhältnisse d. h. die Vielkernigkeit und schließlich das vollkommene Fehlen eines Zellmundes geltend gemacht wurden. Wenn ich sie vergleichen soll, so haben sie mit den Opalinen das Fehlen pulsierender Vakuolen gemein. Die Kernverhältnisse, auf welche im folgenden näher eingegangen werden soll, zeigen aber mancherlei Unterschiede gegenüber denen der Opalinen, mit denen sie nur in dem Mangel einer Differenzierung zweier Kernsubstanzen übereinstimmen. Das Fehlen eines Cytostoms kann als Vergleichspunkt nicht mehr in Betracht kommen, da diese Bildung ja manchmal vorhanden ist. Die Frage nach den verwandtschaftlichen Beziehungen unserer Infusorien dürfte daher erst entschieden werden können, wenn sowohl bei ihnen als bei den Opalinen die vollständigen Entwicklungskreise ermittelt sein werden.

Der Kernapparat.

Der eigenartige Kernapparat unserer Infusorien tritt in so mannigfaltigen Modifikatiouen auf, daß man beim Stndinm der Ausstrichpräparate, die viele Individuen enthalten, eine große Fülle verschiedener Bilder erhält, deren genauere Beschreibung große Schwierigkeiten bereiten würde. Bald sind die Tiere angefüllt mit regellosen ungleichförmigen Brocken, die bei schwächerer Vergrößerung einen ziemlich gleichartigen Bau anfweisen. Neben großen Brocken findet man kleinere, bis zu winzig kleinen, Körnchen, die alle ungeordnet im Alveolenwerk des Zellkörpers zerstreut liegen (Taf. IX Fig. 4, Taf. X Fig. 21 u. 26, Taf. XI Fig. 45). Ein anderes Kernbild kann man mit einem Knäuel vergleichen (Taf. IX Fig. 5, Taf. XI Fig. 37). Bald bandförmig, bald fadenförmig, bald gewunden und verschlungen durchzieht die Kernsubstanz die Zelle. Man kann sich dieses Stadium gut vorstellen, indem man sich ein kleines Garnknäuel weit aufgelockert denkt, so daß die Garnfäden bald kreuz und quer dnrcheinanderlaufen, sich verschlingen usf. Foettinger glaubte in dieser Form den eigentlichen Kern erblickt zu haben, da er gelegentlich ein einheitliches, zusammenhängendes Band fand. Doch ist dieses Stadium nur ein vorübergehendes. Von einem eigentlichen Kern kann man hier nicht reden. Dieses Schlingenwerk von Kernsnbstanz wird aufgelöst, aus ihm bilden sich Brocken nnd Körner, oder umgekehrt, die Brocken und Körnchen fließen in Fäden und Bänder zusammen. Ein zusammenhängendes Stricksystem, das die Zelle in ihrer ganzen Ausdehnung durchzieht, sieht man seltener. Meist weist dasselbe schon mehr oder weniger große Lücken auf, indem es in dem einen oder anderen Teil der Tiere schon zerfallen und in einen anderen Zustand übergegangen ist. In den Kernschlingen selbst kann man bei starker Färbung und schwächerer Vergrößerung keine besondere Differenzierung wahrnehmen. Daß wir es aber stets mit Kernsubstanzen zu tun haben — Chromatin und Plastin kommen in Betracht — beweist der Umstand, daß ich mit allen Kernfärbemitteln, die ich anwandte, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Delafield'schem Hämatoxylin, Boraxkarmin, Safranin usw. und bei den verschiedenen, oben genannten Fixiermethoden stets dieselben Bilder erhielt. Außer den erwähnten Gebilden färbte sich nichts mehr im Plasma.

Manchmal trifft man Exemplare (*Chromidina elegans*) an, deren langgestreckter Körper bei schwächerer Vergrößerung ganz und gar oder nur streckenweise frei von Kernsubstanzen erscheint, das

Protoplasma hat dann in diesen Teilen nur eine scheinbar diffuse ganz schwache Färbung angenommen. Bei starker Vergrößerung nimmt man aber sehr kleine Körnchen wahr, welche besonders in den Alveolen auffallen, aber auch über die Wände derselben ausgebreitet sind und im optischen Durchschnitt das Bild eines chromatischen Netzwerkes ergeben, welches an das Chromidialnetz erinnert, welches in jüngster Zeit bei verschiedenen Protozoen durch R. Hertwig und Schaudinn bekannt geworden ist. Den Namen „Chromidialnetz" für diese Kernkonfiguration möchte ich jedoch an dieser Stelle nur in rein morphologischem Sinne anwenden, ohne auf eine etwaige physiologische oder entwicklungsgeschichtliche Bedeutung dieses Zustandes einzugehen. R. Hertwig hat vor kurzem in einer Abhandlung „Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium Eichhorni" die Begriffe Chromidien und Chromidialnetz unterschieden. Chromidien sind danach Stoffwechselprodukte des Kerns, überschüssige aus dem Kern austretende und im Protoplasma der Zelle zugrunde gehende Teile desselben. Das Chromidialnetz hingegen ist nach seinen Untersuchungen an Thalamophoren „der Hauptsitz der funktionellen Tätigkeit des Kerns, es kann daher der Ausgangspunkt für die Bildung neuer Kerne werden". Inwieweit bei unserem Objekt von Chromidien oder Chromidialnetz gesprochen werden und eine speziell physiologische Deutung gegeben werden kann, wird sich im Laufe der folgenden Darstellung ergeben. Am Schlusse derselben werden wir nochmals darauf eingehen müssen.

Mein Bestreben war, zwischen den oben beschriebenen Kernverhältnissen meiner Objekte, welche innerhalb der Gruppe der Infusorien eine isolierte Stellung einnehmen, und den Kernformen der übrigen Infusorien irgendwelchen Zusammenhang zu finden. Wenn dies auch lange nicht im vollen Maße geschehen ist und dazu ein längerer Aufenthalt am Meere, als er mir möglich war, erforderlich gewesen wäre, so glaube ich dennoch einiges zur Erklärung dieser Kernerscheinungen beitragen zu können. Durch die Untersuchungen R. Hertwig's und Schaudinn's sind uns ja in den letzten Jahren Kernverhältnisse bei Protozoen bekannt geworden, welche für die Auffassung über die Morphologie und Physiologie der Kernsubstanzen und über das Eingreifen in das gesamte Leben der Zelle neue Gesichtspunkte brachten. Angesichts dieser neuen Tatsachen und Ideen werden die Kernveränderungen bei *Opalinopsis* und *Chromidina* nicht mehr als sonderlich merkwürdig erscheinen. Unsere Betrachtung bezieht sich in erster Linie auf rein vegetative Vorgänge der Kernsubstanzen, von denen ich vermute, daß sie in dieser Weise

anch nur im vegetativen Leben dieser Infusorien verwirklicht werden.

Opalinopsis sepiolae.

Das Infusor aus der Leber von *Sepiola rondeletii*, *Opalinopsis sepiolae* (Taf. 9 Fig. 18) soll zuerst ausführlicher behandelt werden, weil die Kernveränderungen gegenüber denjenigen der *Chromidina elegans* und *coronata* verhältnismäßig einfachere sind, wenn sie anch mit diesen große Ähnlichkeit aufweisen. — Wie schon gesagt, muß man vorsichtig sein mit der Deutung der Bilder, welche man durch Eisenhämotoxylinfärbung erhält. Erst dann kann man Gewißheit über die Kernkonfiguration erhalten, wenn man durch die ververschiedenen Fixier- und Färbungsmethoden immer dieselben Bilder erhält. —

Wir gehen von dem Stadium aus, auf welchem das Infusor kompakte Kernmassen in seinem Innern einschließt (Taf. IX Fig. 1 und 2, Taf. X Fig. 19). — Bei *Opalinopsis sepiolae* könnte man am meisten von einem einheitlichen Kern reden, wenn wir derartige Stadien gerade ins Auge fassen, bei *Chromidina* fand ich niemals eine einheitliche Kernmasse, was vielleicht mit der großen Ausdehnung der Zelle zusammenhängt. In unserem Ausgangsstadium liegt inmitten der Zelle ein kompakter Klumpen, der sich vom Protoplasma durch keinerlei Membran abgrenzt, wie ich überhaupt bei *Opalinopsis sepiolae* in dieser Lebensform niemals eine Kernmembran feststellen konnte. Der Klumpen ist nicht kugelig abgerundet, sondern von ungleichförmiger Gestalt, bald eingeschnitten, bald mit Buckeln oder Spitzen versehen. Man nimmt bei gewöhnlicher Kernfärbung keinerlei Differenzierung in demselben wahr. Erst wenn man die Farbe sehr stark mit Salzsäurealkohol oder mit Ammoniakalaun auszieht, so treten öfters, besonders am Rande des Klumpens, kleinste Körner aus der scheinbar homogenen Masse hervor. Es dürfte dies die chromatische oder die Nucleolarsubstanz sein, welche sich in Form dieser kleinen Körnchen aus der kompakten Kernmasse zu differenzieren beginnt. Der Kernklumpen — von einem typischen Zellkern können wir nicht sprechen — zerfällt dann zunächst in größere, kugelige, ovale oder auch eckige Brocken, ohne hierbei seinen Bau im Innern wesentlich zu ändern. Allmählich treten nun aber in der Kernsubstanz Alveolen auf; offenbar wird durch Flüssigkeitsaufnahme die kompakte Kernmasse aufgelockert, gesprengt und schließlich zerbröckelt (Taf. IX Fig. 10 u. 12, Taf. X Fig. 19). Fig. 19 Taf. IX stellt ein Boraxkarminpräparat dar, auf dem die distinkten Körner

noch gar nicht hervortreten. Die aus dem Zerfall des Klumpens hervorgegangenen Brocken ziehen sich nun allmählich in grobe, unregelmäßige Fäden und Bänder aus, welche sich in dem Alveolenwerk des Plasmas kreuz und quer ausbreiten und so das schon früher besprochene Knäuelstadium bilden (Taf. IX Fig. 5 u. 6). Ich hätte noch eine große Reihe von Zeichnungen herstellen können, die alle Übergänge zwischen dem Klumpen und Knäuelstadium veranschaulichen, doch muß ich aus Raummangel darauf verzichten und hoffe, daß die gegebenen Bilder den geschilderten Vorgang genügend erläutern. — In dem Knäuelstadium erscheinen die Enden der Bänder oder Schlingen angeschwollen. Die Kernsubstanz ist jetzt soweit aufgelockert, daß sich die oben erwähnten Chromatinkörnchen schon sehr schön differenzieren lassen. Man kann nun in den Kernmassen deutlich zwei verschiedene Substanzen erkennen, eine sich stark färbende und eine sich schwächer färbende, erstere dürfte dem Chromatin der sonst bekannten Kerne entsprechen, welches, wie auch sonst häufig, in Form dieser kleinen Körner auftritt, die letztere deute ich als Plastin, welches die chromatische Substanz verbindet, zusammenhält und die Formveränderungen der ganzen Gebilde bewirkt. Das Plastin bildet auf unserem Stadium die Grundsubstanz der Fäden und Bänder, während das Chromatin in Form der Körnchen ihm auf- und eingelagert ist und besonders die angeschwollenen Enden der Schlingen einnimmt oder auf die isolierten Brocken beschränkt bleibt. Allmählich lockert sich dieses Knäuel immer mehr auf. Die Körner, welche auf oder in dem Plastin wandern und sich ausbreiten, treten immer deutlicher hervor. Schließlich löst sich das Knäuel auf in kleine Bröckchen und Körner, die dann den ganzen Leib der Zelle erfüllen (Taf. X Fig. 20—21). Die Differenzierung des Chromatins ist bei Boraxkarminfärbung nicht so schön, doch erkennt man immerhin die Körner in den bald kugeligen, bald ovalen, bald polygonalen Plastinbrocken. Dieses Stadium der isolierten Brocken trifft man ungemein häufig an, was vielleicht Ursache war, von einer Vielkernigkeit dieses Infusors zu sprechen. Die Bröckchen selbst lockern sich nun noch weiter auf und zerfallen in kleinere Partikel. Oft tritt man einem Bild entgegen, das an Zweiteilung von Kernen erinnert, indem diese chromatinhaltigen Klümpchen noch durch einen dünnen Plastinfaden in Verbindung stehen. Das Plastin breitet sich allmählich auch über die feinsten Alveolenwände aus und wird immer schwerer nachzuweisen. Doppelfärbungen eignen sich hierzu am besten (Borax- oder Pikrokarmin und Delafield'sches Hämatoxylin). Das Plastin erscheint dann

blaßviolett gefärbt, die Chromatinkörner, welche jetzt überall deutlich hervortreten, tief dunkelviolett oder schwarz. Die Figuren 7—10 Taf. IX dürften eine genügende Vorstellung dieser Kernformen geben. Foettinger, der dieses Stadium auch schon beobachtet hat, beschreibt ein Netz, welches die Zelle erfüllt. Das Plastin bildet oft sehr lange, dünne Fäden, auf welchen die Chromatinkörnchen hinwandern und sich so in der Zelle zerstreuen (Taf. IX Fig. 9 u. 10). Diese Kernveränderungen gehen nun nicht ganz gleichzeitig in dem ganzen Körper des Infusors vor sich, sondern es finden sich oft neben Klumpen in einem Teil noch Schlingen und Bänder in einem anderen, oder es sind auch manche Brocken hier schon vollständig zerfallen, während andere dort erst zu zerfließen beginnen und wieder andere noch gar nicht den Anfang gemacht haben.

Eigentümlich ist, daß die Bröckchen und die aus denselben hervorgegangenen Chromatinkügelchen sich oft in der Mitte der Zelle ansammeln, sich dort gleichsam zu einer Platte vereinigen und von da aus sich weiter über die Peripherie der Zelle ausbreiten. Bei großen Tieren sind manchmal zwei solcher Platten, eine größere und eine kleinere, vorhanden. Das Protoplasma zeigt auf diesem Zerfallstadium der Kernsubstanzen einen sehr weit- und großmaschigen Bau. Wenn die Kernmassen sich zu der plattenartigen Ansammlung vereinigt haben, beobachtet man meist zu beiden Seiten derselben besonders große Vakuolen, so daß man zu der Vorstellung geführt wird, daß diese Flüssigkeitsausammlungen vielleicht die Ursache für die Zusammenschiebung der Kernsubstanzen auf den engen Raum der Platte sein könnten (Taf. IX Fig. 11). Die Infusorien erreichen auf diesem Stadium ihre ansehnlichste Länge: 80—90, ja bis 95 μ. Damit soll allerdings nicht gesagt sein, daß man nicht gelegentlich auch Tiere mit Kernen in anderen Stadien in diesen Dimensionen findet; doch sind derartige Zellen seltener.

Meine Beobachtungen haben mich zu der Annahme geführt, daß mit der Erreichung des zuletzt geschilderten Stadiums, das zugleich mit dem Höhepunkt des Wachstums zusammenfällt, die Vermehrung durch Teilung beginnt. Die Teilungsstadien, welche ich beobachtete und von denen einige nach Präparaten gezeichnet wurden, waren alle etwa 85—90 μ und größer. Öfters fanden sich Tiere, die offenbar gerade beginnen wollten, sich zu teilen; ungefähr in der Mitte der Zelle konnte man einen schwachen Einschnitt wahrnehmen. Die Kernsubstanz war in Auflösung begriffen. Neben Bröckchen lagen zerstreut im Alveolenwerk die oben erwähnten Chromatinkügelchen (Taf. X Fig. 22). Es liegt daher die Annahme sehr nahe, daß bei

einer vollständigen Auflösung der Kernsubstanzen, welche eben bei der ansehnlichsten Größe der Infusorien erreicht wird, Teilung eintritt.

Die sich jetzt abspielenden Kernveränderungen, die, wie im folgenden erklärt werden wird, zu einer Neubildung der massigen Klumpen führen, gehen während des Teilungsaktes ebenso wie nach der Teilung kontinuierlich weiter, üben auf die einmal begonnene Teilung keinen Einfluß aus. Ich verweise auf die Figg. 22—26 Taf. X. Je nachdem sich die Teilung rascher oder langsamer vollzogen hat, finden wir nach der Trennung zweier Tochterindividuen die Kernsubstanzen in ihren kontinuierlichen Veränderungen mehr oder weniger fortgeschritten. — Den Weg der Weiterentwicklung, die Rekonstruierung der Kernsubstanzen, anfzudecken, bot mir größere Schwierigkeiten. Erst nach genauerer Untersuchung der Teilungsstadien von Beginn der Teilung an bis zur Vollendung derselben und der Tochterindividuen war es mir möglich, einen vollständigen Kreis der Kernmodifikationen aufzustellen. Auch die Größenunterschiede der Infusorien halfen hierbei. Wenn man nämlich Infusorien, welche durch den zentral gelegenen Kernklumpen ausgezeichnet sind (Taf. IX Fig. 1—4) oder auch die folgenden mit den groben Brockenformen oder auch mit dem Knäuelstadium vergleicht, so findet man, daß fast alle diese Formen die mittlere Größe (55—60 μ) haben. Diese Infusorien wachsen heran und erreichen mit einer vollkommenen Auflösung der Kernbröckchen in Chromatinkörnchen ihre ansehnlichste Größe, bei welcher sie offenbar die Teilung eingehen. Die aus den Teilungen hervorgegangenen kleineren Individuen, welche merkwürdigerweise niemals ganz gleich groß sind, messen stets weniger als die mittleren Formen, etwa 40—45 μ. In der Größe sind aber von diesen letzteren, den kleinsten Infusorien also, an bis zu den mittleren Formen alle Übergänge vorhanden, und mit diesen Größenübergängen auch solche der Kernsubstanzen, so daß es also sehr einleuchtend erscheint, mit diesem Wachstum eine Reorganisation der Kernklumpen anzunehmen. Das ganze Körnchennetz (Taf. X Fig. 27), wenn wir von einem derartigen Stadium ausgehen, fließt zusammen zu Bröckchen (Taf. X Fig. 28 ein Boraxkarminpräparat, auf dem die Differenzierung der Körnchen sehr schön hervortritt) von runder, ovaler, eckiger oder sonstiger Gestalt (Taf. X Fig. 29 u. 30), die ihrerseits in die Bänder- und Fadenform (Fig. 31) und schließlich in das Knäuelstadium (Fig. 32) übergehen, aus dem dann die unförmigen Kernklumpen hervorgehen. Wir hätten somit bei *Opalinopsis* einen geschlossenen Kreis von vegetativen Kernverände-

rungen, die zudem in bestimmter Beziehung zur Fortpflanzung stehen. Derselbe stellt sich folgendermaßen dar:

1. Eine vollständige Auflösung und ein Zerfall der Klumpen und Bröckchen in feine Körner, welche letzteren bei starker Vergrößerung und gut differenzierter Doppelfärbung sehr deutlich zu erkennen sind. 2. Teilung der Infusorien: die Tiere erreichen ihre ansehnlichste Größe auf dem Stadium der vollständigen Auflösung der Kernsubstanzen, worauf sie sich teilen. 3. Eine Reorganisation der Kernklumpen, d. h. das Plastin sammelt sich an in den Wabenwänden an besonderen Stellen und führt die Körner mit, so daß Bröckchen entstehen, die zu groben Bändern und Schlingen auslaufen, aus welchen sich dann die Kernklumpen bilden, von denen wir ausgingen.[1])

Chromidina.

Es muß vorausgeschickt werden, daß die Kernveränderungen bei *Chromidina elegans* und *Chromidina coronata*, soweit ich sie verfolgen konnte, ganz in gleicher Weise vor sich gehen. Das zur Untersuchung gelangte Material von *Chromidina elegans* war zwar viel größer, und manche Stadien, welche sich bei diesem Infusor vorfanden, wurden bei *Chromidina coronata* nicht gefunden, so z. B. die vollkommene Auflösung der Kerne in ein Chromidialnetz. Man kann aber wohl angesichts der übrigen Formen, welche die Kernsubstanz durchläuft, mit Sicherheit darauf schließen, daß die Kernveränderungen bei beiden Infusorien die gleichen sind. *Chromidina coronata* erreicht im großen und ganzen nicht die Größe der *Chromidina elegans*. Hiermit mag es vielleicht im Zusammenhang stehen, daß man bei diesen Infusorien öfters Tiere findet, in denen das Bild der Kernsubstanzen einen einheitlichen Charakter trägt; so z. B. zieht sich durch das ganze Tier bis in die Knospen hinein ein Schlingenwerk, oder es finden sich im ganzen Tier bis in die Knospen hinein die Brocken usf., womit allerdings nicht gesagt ist, daß ebenso oft auch in einem und demselben Tier Übergänge vorhanden sind. Bei *Chromidina elegans*, welche, wie früher erwähnt,

[1]) Caullery und Mesnil haben Kernstrukturen eines parasitischen Infusors, *Foettingeria actiniarum* (Clap.) beschrieben, die große Ähnlichkeit mit den Kernstadien der *Opalinopsis* aufweisen. Diese Parasiten der Actinien stehen verwandtschaftlich sehr wahrscheinlich den Opalinopsen am nächsten, sowohl was den Habitus als auch besonders was die Kernsubstanzen angeht, die ebenso wie bei *Opalinopsis* bald in Form von Brocken und Bändern, bald in Form eines Netzes zutage tritt.

Zelleibes viele Modifikationen auf, so daß z. B. im Vorderteil die Kernsubstanz schon aufgelöst ist, in der Mitte eben gerade zu zerfließen beginnt, im Endteil oder in den Knospen noch kompakt erscheint. —

Man kann bei diesen Infusorien wohl mit Sicherheit behaupten, daß alle Kernveränderungen, welche sich in diesen Entwicklungsformen abspielen, vegetative sind, die auch nicht mit der Fortpflanzung durch Knospung in Zusammenhang stehen.

Verfolgt man eben freigewordene Knospen in ihrer Entwicklung, so finden sich in ihnen von Anfang an schon die verschiedenen Kern- oft von ungeheurer Länge ist, treten meist innerhalb des ganzen modifikationen. Die Knospung selbst geht schon in mannigfacher Weise vor sich. Bald finden wir kleine runde Knospen, welche oft noch lange Zeit mit dem Muttertier in Verbindung stehen (ich zählte manchmal 16—20 Knospen), bald langgestreckte, die sich, wie auch die kleinen Knospen, meist noch einmal teilen. Ich verfolgte nun die Infusorien hinsichtlich ihrer Kernveränderungen von den kleinsten offenbar noch nicht lange freigewordenen Formen bis zu den längsten und kam stets zu dem Resultat, daß sich fast alle Kernveränderungen, die sich im großen erwachsenen Tier abspielen, auch schon in den jugendlichen Formen zeigen. Zu einer vollkommen befriedigenden Erklärung aller Modifikationen bei diesen Infusorien bin ich nicht gekommen. Es liegt dies daran, daß ich gar nicht imstande war, die Tiere eine lange Zeit hindurch lebend zu beobachten und auf die Kernverhältnisse, welche ich anfangs noch gar nicht kannte, in jeder Beziehung acht zu geben. Im Laufe der folgenden Darstellungen werde ich die Punkte speziell hervorheben, in denen mir die Erklärung für einen Zusammenhang fehlt. —

In dem langgestreckten Körper einer ausgewachsenen großen *Chromidina* treten die Kernsubstanzen in den verschiedensten Konfigurationen auf. Und zwar habe ich die Überzeugung gewonnen, daß diejenigen Stadien, welche wir in dem Endteil der Zelle oder in den Knospen finden, die jüngeren sind, diejenigen, welche sich im vorderen Teil der Zelle abspielen, die älteren. Vergleicht man zwei Chromidinen, die verschiedene Kernkonfigurationen besitzen, so kann man oft diejenigen Stadien, welche sich bei der einen im Vorderteil vorfinden, in dem Endteil der anderen beobachten, dagegen im mittleren oder im vorderen Teil eine andere neue Modifikation usf. In dieser Weise kam ich zu einem bestimmten Kreis ähnlich demjenigen, den wir bei *Opalinopsis sepiolae* kennen lernten. Ich zeichnete mir die verschiedensten Kernformen auf, verglich sie und gab bei

den Untersuchnngen besonders acht, inwieweit sich die Stadien wiederholten und die einen Kernformen aus anderen entwickelten. Wollen wir also die Kernveränderungen in ihrem Verlanf untersnchen, so müssen wir stets von der Knospe oder dem hinteren Teil der Zelle ausgehen und sie nach dem Kopfe hin verfolgen. Mit Bestimmtheit zn sagen, daß die Vorgänge in den Kernsubstanzen sich immer in derselben Reihenfolge vollziehen, ist aber nicht möglich. —

Bei der Beschreibung der verschiedenen Kernformen gehe ich von den kompakten Bröckchen aus, welche die Zelle oft in ungeheurer Anzahl erfüllen. Diese Brocken oder Bröckchen lassen die Infusorien beim ersten Anblick vielkernig erscheinen. Doch sind sie ebensowenig Kerne wie diejenigen, welche bei *Opalinopsis sepiolae* beschrieben wnrden. Sie besitzen alle möglichen Formen, bald sind sie rund, bald oval, meist nngleichförmig, eckig nnd zerrissen nnd von der verschiedensten Größe (Taf. XI Fig. 33, 42 u. 57). Alle drei Figuren sind nach Präparaten dreier verschiedener Infusorien gezeichnet. In dem ersten Tier (Taf. 11 Fig. 33) fanden sich die Brocken im Endteil (welcher auch gezeichnet ist) und im mittleren Teil, in dem zweiten Tier im vorderen und mittleren Teil des Infusors (Taf. XI Fig. 42), im dritten Tier (Taf. XI Fig. 57) im Vorderteil der Zelle. Ich nehme also, wie gesagt, an, daß der vordere Teil (Kopf) der ältere Teil des Infusors ist, daß sich die Kernveränderungen in ihm zuerst abgespielt haben. Wenn eine Knospe sich losgemacht hat, so beginnt sie zu wachsen, ein Kopf bildet sich gewissermaßen aus, indem der vordere Teil der Zelle an Dicke zunimmt. Das Tier beginnt nnn nicht sofort Knospen zu entwickeln — ich fand wenigstens höchst selten kleinere jüngere Tiere mit Knospen — sondern es wächst vor allen Dingen in die Länge, wobei in seinem Innern die verschiedenen Kernveränderungen schon auftreten. Ich hätte, statt Endteil, Mittelstück oder Vorderende eines Infusors zu zeichnen, ebenso ein junges Tier oder eine Knospe, welche diese Bröckchen enthalten, zur Darstellung bringen können. — Bei guter Differenzierung treten besser als bei *Opalinopsis sepiolae* zwei Substanzen in den Kernbrocken hervor, eine sich stark färbende, das Chromatin, und eine sich schwach färbende, das Plastin. — Für alle Kernstadien ist stets Doppelfärbnng zu empfehlen, wodurch das Plastin sich gut nachweisen läßt. Das Chromatin zeigt sich in Form kleinster Körner, die sich bei allen Veränderungen deutlich hervorheben. — Die Bröckchen fangen an zu zerfallen uud zu zerfließen, in ihneu treten öfters kleinere

Alveolen auf. Das Plastin breitet sich über die Alveolenwände des Protoplasmas hin aus und nimmt die Körnchen mit (Taf. XI Fig. 34 u. 35). Diese Veränderungen treten nun in allen möglichen Modifikationen auf. Die Figuren (Taf. XI Fig. 36 u. 37) geben ebenfalls ein gutes Bild dieser Übergänge. Je aufgelöster die Bröckchen erscheinen, je mehr die Chromatinkörnchen im Plasma verteilt werden, desto mehr schwindet das Plastin, d. h. es wird immer schwerer nachweisbar. Sind die Bröckchen alle zerflossen, was sehr ungleichmäßig vor sich geht, so ist die Zelle erfüllt von einem förmlichen Netz, in dessen Maschen die Chromatinkörnchen liegen. Die Bröckchen sind also vollständig zerflossen in kleinste Chromatinpartikelchen (Taf. XI Fig. 36). Von diesem Stadium mit Sicherheit auf die folgenden zu schließen, war mir nicht möglich. Wohl aber fand ich Übergänge von der Brockenform zu einer netzartigen Form, wie sie die folgende Figur (Taf. XI Fig. 37) darstellt. Meine Auffassung, welche ich während meiner Untersuchungen gewann, ist die, daß die Kernveränderungen in den verschiedensten Weisen vor sich gehen. Infolgedessen finden wir die mannigfaltigsten Bilder der Auflösung der Bröckchen und der Verteilung der Chromatinpartikelchen. So erkläre ich mir denn auch das Stadium, welches durch Fig. 36 u. 37 Taf. XI charakterisiert ist, als ein Stadium der vollständigen Auflösung der Bröckchen zu einem Netz. — Man findet ungemein häufig derartige schöne Formen, welche oft die ganze Zelle in Windungen und Verschlingungen durchziehen. Es treten immer bei guter Färbung und Differenzierung die feinen Körner hervor, die in einer Plastinunterlage eingebettet liegen. Indem die Körnchen auf dieser Unterlage an bestimmten Stellen wieder zusammenfließen, entstehen die Brocken und Bröckchen, von denen wir ausgingen (Taf. XI Fig. 40—43, aus einem Tier). Zum Aufbau derselben wird wohl nur ein Teil der Kernsubstanzen verwendet, während der andere zugrunde geht. Es ist schwer zu entscheiden, ob die Kernsubstanzmenge im vollends aufgelösten Zustand im Vergleich zu derjenigen, welche in Form der Bröckchen und Klumpen auftritt, eine größere ist, wiewohl sie als solche erscheinen mag.

Sehr oft fand ich nun auch Kernstadien, welche ich anfangs gar nicht unterzubringen wußte. Die oben beschriebenen Körner, welche sich sowohl bei den Brocken als auch auf dem Auflösungsstadium immer gut nachweisen lassen, sind im oben geschilderten Kreis äußerst fein und klein. Neben diesen feinsten Körnchen treten aber auch sehr oft gröbere auf, d. h. bei sehr vielen oder fast der Hälfte

der Infusorien findet sich ein vegetativer Entwicklungskreis der Kernsubstanzen, der ganz in derselben Weise wie der soeben beschriebene vor sich geht, nur mit dem Unterschied, daß das Chromatin nicht in feinste Körnchen differenziert ist, sondern in gröbere. Ich glaubte zuerst, in diesen Formen bestimmte Entwicklungsstadien der vegetativen Vorgänge erblicken zu müssen. Doch sind sie offenbar nur besondere Modifikationen, welche angesichts der so mannigfaltigen Formen und Übergänge gar nicht mehr auffallen. —

Gehen wir bei dieser Reihe von Formen wieder von den Brocken aus, so lösen sich dieselben ebenfalls auf (Taf. XI Fig. 46—48). Die hier grob erscheinenden Chromatinkörner treten scharf hervor und liegen oft einzeln in den Alveolenwänden. Die Auflösung geht in oben geschilderter Weise von statten, ich verweise daher auf die Figuren 48, 49 u. 50—52 (Taf. XI). Das Plastin ist schwer nachzuweisen. Hat man zu stark gefärbt oder nicht genügend differenziert, so erhält man ein weniger günstiges Bild (Fig. 49 z. B. nach einem Eisenhämatoxylinpräparat gezeichnet). Diese Stadien kann man den oben erwähnten (Taf. XI Fig. 36 u. 37) gegenüberstellen, indem die Kernsubstanz in Form von Fäden oder breiten Bändern die Zelle durchsetzt. Aus diesem Schlingenwerk oder dieser aufgelösten Form bilden sich dann wieder durch Zusammenfließen die Brocken (Taf. XI Fig. 53—55, aus einem Tier). Die Körner erscheinen hier noch gröber und massiger. Die Zeichnungen werden zur Genüge eine Vorstellung geben von der Mannigfaltigkeit der Kernmodifikationen. Die Körner fließen zu ungleichförmigen Brocken und Klumpen zusammen, welche nur bei guter Differenzierung Chromatin und Plastin erkennen lassen. Wendet man bei den oben geschilderten Kernstadien Doppelfärbung mit Pikro- oder Boraxkarmin und DELAFIELD'schem Hämatoxylin an, so nimmt das Plastin einen violetten Ton an, der mit der Auflösung der Brocken etc. stets matter wird und mit dem vollkommenen Zerfall anscheinend verschwindet. — Sehr selten fand ich das in Fig. 44 u. 45 Taf. XI gezeichnete Bild des Zerfalls der Bröckchen.

Fassen wir die Kernveränderungen, welche in den Chromidinen zutage treten, nochmals kurz zusammen. Die Kernsubstanz in Form der kompakteren Bröckchen und Klumpen löst sich auf in kleinste Partikelchen. Dies geht entweder auf dem Wege des Zerfalls vor sich, indem die Bröckchen, wenn wir von diesen ausgehen, sich auflockern und in kleine Teile zerlegt werden, oder auf dem bei weitem am häufigsten stattfindenden Weg des Zerfließens, indem das Plastin beginnt, faden- und bandartig sich über die Wabenwände des Proto-

plasmas hin auszubreiten, und auf diese Weise dafür sorgt, daß die Chromatinkörner verteilt werden. Es kommt so zur Bildung eines förmlichen Netzes, welches meist in Form eines Schlingen- oder Maschenwerkes die Zelle durchsetzt. Aus diesem Schlingenwerk rekonstruieren sich wieder die Brocken, wobei vielleicht nur ein Teil der aufgelösten Kernsubstanz verwendet wird. —

Neben diesen Veränderungen fand ich noch eine andere, welche ich hier isoliert beschreiben muß, da sie offenbar nichts mit den vegetativen Vorgängen zu tun hat. Wie schon erwähnt, treten in den vegetativen Kernmodifikationen sowohl der *Opalinopsis* als auch der Chromidinen keine typischen Kerne auf. Es sind vielmehr Klumpen oder Bröckchen ohne irgendwelche Membran, die allerdings eine Differenzierung in Chromatin und Plastin erkennen lassen. Bei unserer Form fand ich nun außer diesen Stadien auch typische, bläschenförmige Kerne mit einer besonderen inneren Struktur. Eine Membran ist vorhanden. Das Chromatin und Plastin treten entweder in Form eines feinen Maschenwerks auf, so daß der Kern gleichmäßig gefärbt erscheint, oder es hat sich auch das Chromatin in den Alveolenecken oder an anderen Stellen zu kleinsten Körnchen gesammelt. Auch hier hat sich wieder die Doppelfärbung besonders gut bewährt (Taf. XI Fig. 58). Ich fand niemals ein Infusor, dessen Protoplasma nur derartige Kerne enthielt, sondern immer Tiere, in deren Innerem Übergangsstadien vorhanden waren, im Endteil die Kerne (Taf. XI Fig. 58), im mittleren oder vorderen Teil dieselben in Auflösung begriffen (Fig. 59 u. 61) oder schon aufgelöst (Fig. 60 und 62). Man kann sehr schön alle Übergänge verfolgen. Die Kerne werden heller und größer, die Membran schwindet allmählich, wie auch die runde bläschenförmige Gestalt. Es treten im Plasma äußerst feine Körner hervor, welche sich nun über die Zelle hin ausbreiten (Taf. XI Fig. 58—62). Und zwar treffen wir meist ein ganz einheitliches Bild an. Die Körnchen verteilen sich ganz gleichmäßig im Protoplasma und lassen dasselbe sehr schwach gefärbt erscheinen. Man trifft auch ganze Tiere in diesem Zustand (Taf. XI Fig. 63, Endstück der Zelle). Erst bei starker Vergrößerung fallen die kleinen Körner auf, welche aus der vollkommenen Auflösung der typischen Kerne entstanden sind. Eigentümlich ist, daß ich bei derartigen Stadien niemals eine Knospe fand.

Doch fand Herr Dr. Hartmann gelegentlich einer Durchmusterung meiner Präparate auf Dicyemiden ein solches Infusor mit vollständig aufgelösten Kernen, welches eine Knospe gebildet hatte. Inmitten dieser Knospe lag ein einziger typischer, bläschenförmiger

Kern. Es ist möglich, daß dieser Kern aus dem Chromidialnetz gebildet wurde, und ferner, daß die Bildnng dieser Knospe auf einen andersartigen Fortpflanzungsvorgang hinweist. Leider ist es mir trotz vielen Suchens nicht möglich gewesen, noch ein derartiges Stadium zu finden.

Während bei den meisten Infusorien die Kernsubstanzen in Form zweier differenten als typische Zellkerne ausgebildeten Zellbestandteile zu finden sind, macht die Gruppe der Opaliniden eine Ausnahme. Hier finden wir ein vegetatives Leben, keine Differenzierung von Makro- und Mikronuklens. Die Kerne der meist mehrkernigen Angehörigen dieser Gruppe sind stets gleichartig. Bei diesen Formen dürfte es vielleicht erst bei der geschlechtlichen Fortpflanzung zu einer morphologischen Sonderung von vegetativer und Geschlechtskernsubstanz, wie sie bei den anderen Infusorien während des längsten Teils ihres Lebens verwirklicht ist, kommen. Man könnte sich vorstellen, daß diese Sonderung in ähnlicher Weise erfolgt wie bei *Entamoeba coli* nach den Untersuchungen Schaudinn's. Dort wird der einheitliche Kern zu einer diffusen Masse aufgelöst, aus der sich dann die Geschlechtskerne von den vegetativen, dem Untergang bestimmten Kernmassen aussondert. Bei Betrachtung unserer Formen liegt die Vorstellung nahe, daß der Zustand, der bei der *Entamoeba coli* vor der Geschlechtstätigkeit kurze Zeit verwirklicht ist, hier dauernd geworden ist. Man kann sich denken, daß eine *Opalina* mit vielen gleichartigen, bläschenförmigen Kernen zu einer *Chromidina* oder besser zu einer *Opalinopsis* wurde, indem alle ihre Kerne sich zu Chromidien auflösten. Den Begriff der Chromidien fasse ich hierbei rein morphologisch in dem ursprünglichen Sinn, der zuerst von R. Hertwig aufgestellt wurde. Die Chromidien unserer Infusorien dürften hiernach den aufgelösten Kernsubstanzmassen entsprechen, welche Schaudinn vor der Schizogonie von *Polystomella* beschrieben hat, die in diesem Zustand vegetative und Geschlechtskernsubstanzen vereinigen. Ob dieser Vergleich zutrifft, kann natürlich erst entschieden werden, wenn die Geschlechtsvorgänge bekannt sein werden.

Nachtrag.

Während des Druckes dieser Arbeit erschien die Arbeit von R. Goldschmidt, „Die Chromidien der Protozoen", die eine kritische Besprechung des Chromidienbegriffes enthält. Hiernach würden die Kernsubstanzmassen der *Opalinopsis* resp. der *Chromidina* eine Vereinigung von Sporetien und Chromidien sein.

Literaturverzeichnis.

1) Bütschli, O.: Die Protozoen. in: Bronn's Kl. u. Ordn. des Tierreichs.
2) Caullery, M. et F. Mesnil (1903): Sur la structure nucléaire d'un infusoire parasite des actinies. C. R. Soc. Biol. Paris v. 55 p. 806—809.
3) Foettinger, A. (1881): Recherches sur quelques Infusoires nouveaux, parasites des Cephalopodes. Arch. Biol. v. II.
4) Goldschmidt, R. (1904): Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Biol. Centralbl. Bd. XXIV.
5) — (1904): Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V H. 1.
6) Hertwig, R. (1902): Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f Protistenk. Bd. I H. 1.
7) — (1904): Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium Eichhorni. Festschr. z. 70. Geburtstage von E. Haeckel. Jena, Gustav Fischer.
8) Schaudinn, F. (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XIX H. 3.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren wurden bei derselben Vergrößerung gezeichnet. Zur Verfügung stand mir ein Winkel'sches Mikroskop. Beim Zeichnen wurde die Homog. Immers. (2 mm) und das Comp. Ocular 4 benutzt.

Tafel IX.

Fig. 1. *Opalinopsis sepiolae*, kompakter Kernklumpen im Zentrum.
Fig. 2. Kompakter Kernklumpen im Zentrum.
Fig. 3—4. Der Kernklumpen im Zerfall.
Fig. 5—6. Das Knäuelstadium.
Fig. 7—10. Kernsubstanzen in vollständiger Auflösung begriffen.
Fig. 9—11. Chromidialnetzbildung.
Fig. 12—16. Vorderenden von *Chromidina elegans.*
Fig. 12—15. Cytostom in rudimentärer Ausbildung.
Fig. 13. Andeutung eines Zellmundes am äußersten Ende.
Fig. 14. Cytostom nach einem Präparat gezeichnet.
Fig. 16. Cytostom nach dem Leben gezeichnet (Vorderende von *Chromidina elegans*).
Fig. 17. Vorderende von *Chromidina coronata.*
Fig. 18. *Opalinopsis sepiolae* nach dem Leben gezeichnet.

Tafel X.

Fig. 19. Kernklumpen (Boraxkarminpräparat), der Flüssigkeit in sich aufgenommen hat, die den Klumpen zersprengt.
Fig. 20. Kernmassen in Auflösung begriffen.
Fig. 21. Kernsubstanzen in Form von Brocken und Bröckchen.
(Fig. 19—21. Nach Boraxkarminpräparaten gezeichnet.)
Fig. 22. Teilung von *Opalinopsis sepiolae* nach dem Leben gezeichnet.

(Fig. 22—26. Teilungsstadien von *Opalinopsis sepiolae.*)

Fig. 23—25. Kernsubstanzen sich wieder sammelnd zu Brocken.

Fig. 26. Kernmassen in Form der Brocken (nach Karminpräparat).

Fig. 27. Tochterindividunm, aus einer Teilung hervorgegangen mit einem Chromidialnetz.

Fig. 28—30. Übergang von Chromidien zu Bröckchen. Junge Individuen.

Fig. 31. Kernsnbstanzen in Form von Fäden und Bändern.

Fig. 32. Knäuelstadium.

Fig. 27—32. Junge Individuen.

Tafel XI.

Kernkonfigurationen von *Chromidina.*

Fig. 33. Kernsubstanz in Form von unregelmäßigen Brocken, ebenso Fig. 42 und 57. Fig. 33 Endteil des Infusors.

Fig. 34—35. Auflösung der Brocken.

Fig. 36—37. Auflösung der Brocken und Verteilung der Chromatinkörner im Plasma zu einem Chromidialnetz.

Fig. 38—43. Rekonstruierung der Brocken.

(Fig. 40—43 aus einem Tier.)

Fig. 44—45. Modifikationen in den Kernveränderungen. Zerfall von Brocken.

Fig. 46—48. Gröbere Brocken lösen sich auf in gröbere Chromatinkörner. Aus einem Tier.

Fig. 46—47. Knospen des Infusors.

Fig. 48. Mittelstück.

Fig. 49. Vorderes Ende von *Chromidina elegans.*

Fig. 50—52. Zerfließen der Kernsubstanzen und Verteilung von groben Chromatinkörnern.

Fig. 53—57. Neubildung von Brocken. Aus einem einzigen Tiere (*Chromidina elegans*).

Fig. 53. Knospe.

Fig. 54. Endstück.

Fig. 55—56. Mittelstücke.

Fig. 57. Vorderende.

Fig. 58. Typische bläschenförmige Kerne im Endteil eines Infusors.

Fig. 59—61. Dieselben in Auflösung begriffen.

Fig. 60—62. Die Kerne aufgelöst zu einem Chromidialnetz.

Fig. 63. Endstück eines Infusors. Das Plasma enthielt keine Kerne mehr und war vollständig erfüllt von einem Chromidialnetz.

Das Eisen als das tätige Prinzip der Enzyme und der lebendigen Substanz.

Von **N. Sacharoff.** *)

Kritische Besprechung

von

G. Wetzel (Breslau).

Der Verfasser läßt allen vitalen Erscheinungen ein und denselben Prozeß zugrunde liegen und zwar die Spaltung der lebendigen Substanz durch Sauerstoff. Diese Annahme bildet, von aller früheren Literatur abgesehen, auch bei der Verworn'schen Biogenhypothese eine grundlegende Vorstellung. Während aber bei Verworn die Sauerstoffübertragung entweder durch eine Stickstoffverbindung oder eine Eisenverbindung vollzogen wird, sieht Sacharoff ausschließlich das Eisen als den hierbei wirksamen Anteil des Moleküles an. Das Eisen ist in einer Nukleingruppe, dem Bionuklein enthalten. Dieses ist mit einem Eiweiß oder Kohlehydrat zu einem großen Molekül lebendiger Substanz vereinigt.

Ein Molekül lebendiger Substanz bildet sich aber auch bei jeder Fermentwirkung durch die Vereinigung des wirksamen Prinzipes des Fermentes, welches stets ein Bionuklein ist, mit der zu spaltenden Substanz. Diese Vereinigung tritt auf unter Mitwirkung einer Hilfssubstanz. (Als solche können die verschiedensten Stoffe dienen.) Die so gebildete hochmolekulare lebendige Substanz zerfällt nun sogleich in das Enzym und die Produkte des betreffenden enzymatischen Vorgangs. (Hefeenzym und Zucker geben ein Molekül,

*) Übersetzt von M. Rechtsamer. Jena (Gustav Fischer) 1902.

welches zerfällt in Enzym, Alkohol und Kohlensäure.) In der Zelle selbst soll die oxydative Spaltung der lebendigen Substanz durch eine Hülle von reduzierender Materie verhindert werden, welche die Molekel umgibt.

Das bei der Enzymwirkung entstehende lebendige Molekül gleicht genau dem in der lebenden Zelle enthaltenen. Daraus erklärt sich die spezifische Wirkung der Enzyme, da sie sich stets mit demjenigen Bestandteil wieder vereinigen, mit welchem sie in dem Protoplasma ihrer Mutterzelle vorkamen. Hierdurch wird aber meines Erachtens das Rätsel der Spezietät der Enzyme nur verlegt. Denn nun fragt es sich, welche Eigenschaft des wirksamen Bionukleins ihm nur die Verbindung mit ganz bestimmten Kohlehydraten oder Eiweißen gestattet.

Lebendig nennt der Verfasser weder das Bionuklein, noch den mit ihm sich vereinigenden Körper, sondern nur das durch die Vereinigung entstehende Molekül.

Zur tatsächlichen und experimentellen Begründung seiner Theorie dient dem Verfasser die Analyse der Wirkung des Papayotins auf Gelatine und der von ihm versuchte Nachweis, daß Eisen und Phosphor in dem enzymatisch wirksamen Bestandteil aller Rohenzyme und aller Gewebssäfte enthalten sind. Zur Beurteilung der Richtigkeit des Eisennachweises ist eine genaue Angabe von Kontrolluntersuchungen und überhaupt eine bedeutend eingehendere Schilderung zu wünschen.

Die Sacharoff'sche Theorie ist eine Enzymtheorie der lebendigen Substanz. Verworn verwirft in seiner „Biogenhypothese“ eine Theorie des Lebenssubstrates, welche sich auf die Enzyme aufbaut, hauptsächlich deshalb, weil sie den Anschein erweckt, daß das Unbekannte durch etwas Bekanntes ersetzt worden sei. Die Enzymwirkung zählt jedoch noch zu den unverstandenen Erscheinungen. Herr Sacharoff hingegen kann auf seinem Standpunkte von diesem Vorwurf nicht getroffen werden. Er gibt ja eine allgemeine Theorie aller Enzyme und basiert auf diese, nunmehr verstandene Gruppe von Erscheinungen die Erklärung der Lebensvorgänge. Seine Theorie lüftet sodann im Verlaufe des Werkes den Schleier vor folgenden Erscheinungen: Ernährung (bzw. Assimilation), Wachstum, Fortpflanzung, Zellteilung, Protoplasmabewegung, Muskelkontraktion, Nervenerregung, Tätigkeit der Sinnesorgane, Prozesse im Zentralnervensystem mit Einschluß des Bewußtseins.

Man wird zugeben, daß dies eine ziemlich anspruchsvolle Leistung darstellt, zumal der Verfasser, wenn ich ihn recht verstehe, glaubt,

nicht einfach einen sehr allgemein vorkommenden Vorgang aufgedeckt zu haben, sondern diesen für das Wesentliche bei allen den genannten Prozessen hält. — Im folgenden gehe ich noch auf drei Punkte besonders ein.

1. Verteilung der lebendigen Substanz auf Kern und Plasma. SACHAROFF (S. 41) sagt Positives nur über den Kern aus: „Der Kern repräsentiert aller Wahrscheinlichkeit nach nichts anderes als einen Vorrat an Bionuklein.“ Diese Ansicht deckt sich mit der von VERWORN, wonach Biogen in nennenswerter oder experimentell nachweisbarer Menge im Kern nicht enthalten ist.

2. Auf einen Widerspruch zwischen zwei Abschnitten der Theorie muß aufmerksam gemacht werden. Die Zelle wird (im wesentlichen) aufgefaßt als ein Aggregat gleichartiger lebendiger Molekel, welche durch Kohäsion zusammengehalten werden. Die Zellteilung wird im Anschluß hieran wie folgt erklärt (S. 51): „Wir haben gesehen, daß das Zellenwachstum das Resultat ist einer Vergrößerung der Anzahl von Molekeln lebendiger Substanz dadurch, daß neue Molekel unter Mithilfe von Resten alter Molekel, die als Keime fungieren, gebildet werden, und haben angenommen, daß aus jeder Molekel zwei Keime entstehen — ein bionukleinfreier und ein bionukleinhaltiger. Ein jeder dieser Keime absorbiert aus der Nahrung die ihm fehlenden Ingredientien und wandelt sich in lebendige Substanz um. Der zuerst genannte Keim muß also neues Bionuklein bilden. Weil dieser Körper sehr kompliziert ist, so dürfte es sehr wahrscheinlich sein, daß das neue Bionuklein nicht ganz identisch mit dem alten wird, daß folglich in der Zelle zwei nicht identische Bionukleine und demnach zwei nicht identische lebendige Substanzen entstehen.“ Die Cohäsion innerhalb jeder Art lebendiger Substanz ist nun größer als zwischen den beiden verschiedenen, und dadurch löst sich die Zelle in zwei Aggregate auf, die sich dann trennen. Das Nähere S. 52. Dem widerspricht folgendes: Wir müssen in einer Zelle eine große Anzahl Enzyme annehmen (HOFFMEISTER). Nach der Enzymhypothese von SACHAROFF (s. o. S. 264) müssen dem auch verschiedene Bionukleine entsprechen. Folglich haben wir hier einen Fall, in dem verschiedene lebendige Substanzen in einer Zelle sich finden, ohne daß die Kohäsion der Zelle gelockert wird und Teilung erfolgt. Demnach erscheint es mißlich, das Vorhandensein zweier etwas verschiedener lebendiger Substanzen zur Ursache der Zellteilung zu machen.

3. Ausdrücklich zurückgewiesen werden muß die Auffassung,

welche der Verfasser von der Zugehörigkeit und der Erklärungsfähigkeit seiner Theorie hat.

Sie ist keine Theorie des Lebens, sondern sie weist nur (wenn sie richtig ist) einen chemisch-physikalischen Vorgang nach, der überall in den Lebenserscheinungen sich vorfindet, und durch den diese Erscheinungen ermöglicht werden. Man könnte gerade so gut aus dem physikalisch-chemischen Prozeß, der den Backstein mit dem Mörtel verbindet, die gotischen Backsteinbauten Norddeutschlands in ihrer Eigenschaft als Kunstwerke zu verstehen glauben.

Protozoen-Literatur

1904. II. Teil.*)

[Zusammengestellt vom Herausgeber.]

Allgemeines.

CALKINS, G. N.: Protozoa and disease. in: Century Mag., New York and London v. 67 1904 p. 931—940.

DUNHAM, K.: The effect of X-rays upon lower animal life and the tube best suited to their destruction. in: Med. Magaz. London v. 13 1904 p. 338—344.

GOLDSCHMIDT, R.: Die Chromidien der Protozoen. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 126—145 1 Textfig.

GREELEY, A. W.: Experiments on the Physical Structure of the Protoplasm of Paramaecium and its Relation to the Reactions of the Organism to Thermal, Chemical and Electrical Stimuli. in: Biol. Bull. v. 7 1904 Nr. 1 p. 3—32.

GREEN, A. B.: A note on the action of radium on microorganism. in: Proc. R. Soc. London v. 73 1904 p. 375—378.

GURWITSCH, A.: Morphologie und Biologie der Zelle. Jena (Gustav Fischer) 1904 8°.

HOFER, B.: Handbuch der Fischkrankheiten. München 1904 8° 359 p. 18 pl. [parasitäre Protozoen der Fische].

JENNINGS, H. S.: A Method of Demonstrating the External Discharge of the Contractile Vacuole. in: Zool. Anz. v. 27 1904 p. 656—658 1 Fig.

LEISHMAN, W. B.: Notes on Romanowsky staining. in: Journ. R. Army medic. Corps v. 2 1904 p. 669—680

—: A method of producing chromatin staining in sections. in: Journ. of Hyg. v. 4 1904 p. 434—436.

OLTMANNS, F.: Morphologie und Biologie der Algen. Jena (Gustav Fischer) 1904 8° 733 p. 476 Fig. 20 M.

ETERS, A. W.: Metabolism and division in Protozoa. in: Proceed. Americ. Acad. of Arts and Sci. v. 39 Nr. 20 1904 p. 441—516.

*) I. Teil cf. diese Zeitschrift v. 4 1904 p. 391—400.

Pütter, A.: Die Wirkung erhöhter Sauerstoffspannung auf die lebendige Substanz. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. v. 3 H. 4 1904 p. 363—405 4 Textfig.

Rhumbler, L.: Zellenmechanik und Zellenleben. Leipzig (Barth) 8° 1904 18 p. (Separatabdruck aus: Verh. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 1904.)

Ruzicka, V.: Zur Frage der Färbbarkeit der lebenden Substanz. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. v. 4 H. 1 1904 p. 141—152 1 Taf.

Salomonsen, C. J. & G. Dreyer: Recherches sur les effets physiologiques du radium. in: C. R. Acad. Sci. Paris v. 138 1904 p. 1543—1545.

Smith, J. C.: Preliminary Contribution to the Protozoan Fauna of the Gulf Biologic Station with Notes on some rare Species. 2d Rep. Gulf biol. Stat. Bull. 2, 1904 p. 43—55.

Statkewitsch, P.: Zur Methodik der biologischen Untersuchungen über die Protisten. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 17—39.

Verworn, M.: Die Lokalisation der Atmung in der Zelle. In: Denkschr. med.-nat. Ges. Jena v. 11 (Festschr. f. Ernst Haeckel) 1904 p. 561—569.

Ziegler, H. E.: Das zoologische System im Unterricht. in: Verhandl. der Deutsch. zool. Gesellsch. Jahrg. 14 1904 p. 163—179.

Ziemann, H.: Zur Bevölkerungs- und Viehfrage in Kamerun. in: Deutsch. Kolonialbl. 1904 Nr. 14. Ausführlicher in: Mitteil. a. d. Deutsch. Schutzgebieten v. 17 1904 H. 3 p. 136—174 1 Karte. [Piroplasmose, Trypanosomen.]

I. Kl.: *Sarcodina.*

I. Subkl.: *Rhizopoda.*

[Hierbei Literatur über Amöben-Dysenterie.]

Calkins, G. N.: Evidences of a Sexual-cycle in the Life-history of Amoeba proteus. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 1—16 Taf. I—III 1 Textfig.

Castellani, A.: Some Researches on the Etiology of Dysentery in Ceylon. in: Journ. of Hyg. v. 4 H. 4 1904 p. 495—515. [Entamoeba histolytica Schaud.]

Craig, C. F.: The pathology of chronic specific dysentery of tropical origin. in: Journ. Ass. Mil. Surg. Carlisle Pa. v. 14 1904 p. 353—378.

—: The life cycle of amoeba coli in the human body; a preliminary note. in: Am. Med. Philadelphia v. 7 1904 p. 299—301.

—: The complications of amoebic and specific dysentery, as observed at autopsy; an analysis of one hundred and twenty cases. in: Amer. Journ. med. Sci. n. ser. v. 128 1904 p. 145—146.

Dreyer, G.: Die Einwirkung des Lichtes auf Amöben. in: Mitteil. aus Finsen's Mediciniske Lysinstitut in Kopenhagen H. 4 1904.

Ford, H.: The treatment of dysentery. in: Journ. trop. med. v. 7 1904 Nr. 14 p. 217—225.

Goldschmidt, R.: cf. sub Protozoa, Allgemeines. [Pelomyxa.]

Gruber, A.: Über Amoeba viridis. in: Zool. Jahrb. Suppl. VII 1904 p. 67—75 1 Taf.

Guppy, R. J. L.: On some Samples of Rock from Boring at Sangregrande, Trinidad. — Observations on some of the Foraminifera of the Oceanic Rocks of Trinidad. in: Geol. Mag. n. s. (5) v. 1 1904 p. 193—199 1 Taf., p. 241—250 2 Taf.

Head, G. D. & H. L. Ulrich: Some notes on a case of chronic dysentery with amebae coli in the stools. in: Northwest. Lancet Minneapolis v. 24 1904 p. 249.

Hoppe-Seyler: Über Erkrankung des Wurmfortsatzes bei chronischer Amöbenenteritis. in: Münch. med. Wochenschr. 1904 Nr. 15.

Kemna, Ad.: Morphologie des Foraminifères arénacés. in: Bull. Soc. roy. zool. malac. Belgique v. 39 1904 p. 11—43.

Kiewiet de Jonge, G. W.: De aetiologie der tropische dysenterie. in: Geneesk. tijdschr. voor Nederl. Indië Deel 44 1904 Nr. 2 p. 72—91.

Leardi in Airaghi, Zina: Foraminiferi eocenici di S. Genesio (collina di Torino). in: Atti Soc. ital. Sc. nat. Mus. civ. Stor. nat. Milano v. 43 1904 p. 158—172. — Il Conulites aegyptiensis Chapman e la Baculogypsina sphaerulata (Parker e Jones) di S. Genesio. Foraminiferi eocenici dei colli torinesi. in: Ibid. p. 182—188 1 Taf.

Lemoine, G. H.: Traitement d'un cas de dysenterie amibienne par la quinine. in: Bull. méd. Paris v. 18 1904 p. 181.

Osborn, S.: Amebic dysentery, trichomonas intestinalis, anchylostomum duodenale and tricocephalus dispar in the same patient. in: Physician & Surg., Detroit & Ann Arbor v. 26 1904 p. 164—167.

Penard, E.: Etude sur la Chlamydomyxa montana. in: Arch. f. Protisteuk. v. 4 H. 2 1904 p. 290—334 19 Textfig.

Prowazek, S.: Entamoeba buccalis n. sp. (Vorl. Mitteil.) in: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte v. 21 1904 H. 1 p. 41—44.

Schubert, R. J.: Mitteleocaene Foraminiferen aus Dalmatien. in: Verh. geol. Reichsanst. Wien 1904 p. 115—117. — Über den „Schlier" von Dolnja-Tuzla in Bosnien. in: Ebenda p. 111—114.

Thayler-Jones, L.: Dysentery. in: Journ. American med. associat. v. 43 1904 Nr. 1 p. 12—14.

Tuttle, J. P.: Amoebic dysenterie, its local lesions and treatment. in: Med. Record 1904 (25. Juni) p. 1060.

Zuelzer, M.: Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata Carter. in: Arch. f. Protistenk. v. 4 H. 2 1904 p. 240—289 Taf. X—XII 2 Textfig.

II. Subkl.: ***Helizoa.***

Ostenfeld, C. H.: On two new marine Species of Heliozoa. in: Meddel. fra kommiss. for Havunders., ser. Plankton v. 1 Nr. 2 1904 p. 1—5 7 Textfig.

III. Subkl.: ***Radiolaria.***

Häcker, V.: Bericht über die Tripyleen-Ausbeute der Deutschen Tiefsee-Expedition. in: Verhandl. d. Deutsch. Zool. Gesellsch. 1904 p. 122—157 21 Textfig.

II. Kl.: *Mastigophora.*

I. Subkl.: ***Euflagellata.***

[Hierbei die Literatur über Trypanosomen-Krankheiten.]

Aureggio, E.: Maladies à trypanosomes des animaux (à propos de la maladie du sommeil de l'homme). in: Lyon méd. v. 102 1904 p. 442, 496.

Austen, E. E.: Supplementary notes on the tsetse-flies. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 658—662 1 Fig. [Glossina palpalis, die mutmaßliche Überträgerin der Trypanosomen der Schlafkrankheit.]

Bertarelli, E.: Le recenti scoperti intorno ai tripanosomi. in: Riv. d'igiene e sanità pubbl. Ann. 15 1904 Nr. 11 p. 361—372 6 Fig.

Billet, A.: Sur le Trypanosoma inopinatum de la grenouille verté d'Algerie et sa relation possible avec les Drepanidium. in: C. R. Soc. biol. v. 57 1904 Nr. 27 p. 161—163 16 Textfig.

—: Culture d'un Trypanosome de la Grenouille chez une Hirudinée; relation ontogénique possible de ce Trypanosome avec une Hémogrégarine. in: C. R. Acad. Sci. Paris v. 139 1904 Séance de 10 Octobre.

Blanchard, R.: Sur un travail de M. le Dr. Brumpt intitulé: Quelques faits relativs à la transmission de la maladie du sommeil par les Mouches tsétsé. in: Arch. de Parasit. v. 8 1904 Nr. 4 p. 573—589, desgl. in: Bull. Acad. de méd. Paris 3 sér. v. 51 Nr. 23 p. 485—501.

Bosc, F. J.: Recherches sur la structure et l'appareil nucléaire des Trypanosomes (à propos d'un trypanosome observé chez le lapin). in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 40—77 68 Textfig.

Brauer, A.: Die Fortpflanzung, Vermehrung und Entwicklung der Trypanosomen im Blute surrakranker Tiere. in: Berl. tierärztl. Wochenschr. 1903 Nr. 40.

Brault, J.: Hypnosie, maladie à trypanosomes. in: Ann. Soc. de méd. de Gand v. 73 1904 p. 33—37.

Broden, A.: Über einige Fälle von Infektion mit Trypanosomen am Kongo, an Menschen und Tieren beobachtet. in: Zeitschr. f. angew. Mikr. v. 10 1904 p. 35—37.

Brumpt, E.: Contribution à l'étude de l'évolution des Hémogregarines et des Trypanosomes. in: C. R. Soc. biol. v. 57 1904 Nr. 27 p. 165—167.

Cannac: Un cas de maladie du sommeil (observé à la côte d'ivoire). in: Arch. méd. navale v. 61 1904 Nr. 2 p. 89—97 2 Fig.

Carini, A.: Die pathogenen Trypanosomen des Menschen und der Tiere. in: Korresp.-Bl. f. d. Schweizer Ärzte Jahrg. 34 1904 Nr. 12 p. 392—396.

Castellani, A.: Sleeping Sickness (A paper read before the Ceylon Branch of the British Medic. Assoc. 19. Febr. 1904). Separatabdruck 3 S. 2 Taf.

Cazalbou: Mbori expérimentale. — Note sur la soumaya. [Rap. de Laveran.] in: Bull. Ac. de méd. Paris 1904 p. 348—358.

—: Note sur la maladie du dromadaire dite mbori et la présence d'un trypanosome dans le sang. in: Rev. d. troupes colon. Paris 1904 v. 3 p. 192.

Correia Mendes: Caso de doença do somno n'um branco. in: Med. contemp. Lisbon 2 s. v. 6 1904 p. 152.

Dimmock, H. P.: Trypanosomiasis. in: Indian. med. Gez. v. 39 1904 p. 176.

Duboscq, O.: Changement de génération et changement d'hôte chez Trypanosoma et Spirochaete d'après Schaudinn. in: Arch. Zool. expér. ser. 4 v. 2 1904 Notes et Revue Nr. 9 p. 155—156, Nr. 10 p. 169 (contin).

Dupont, H.: Contribution à l'étude de la maladie du sommeil. in: Le Caducé Paris 1904 v. 6 p. 103—106.

—: Maladie du sommeil. in: Bull. Ac. de Méd. Paris 1904 v. 68 Nr. 18.

Gerrard, P. N.: Malarial sleeping sickness. in: Dublin. Journ. med. Sci. 1904 p. 275—277.

Grassi, B. & A. Foà: Ricerche sulla reproduzione dei Flagellati. I. Processo di divisione delle Joenie e forme affini. in: Rendic. Accad. Lincei v. 13 2. sem. ser. 5 fasc. 5 1904 p. 241—253 17 Fig.

Harford, C. F.: Sleeping sickness and its cause. in: Climate, London 1903/04 v. 5 p. 52—58.

Hodges, A. D. P.: Sleeping sickness: a résumé. in: Lancet 1904 v. 2 Nr. 5 p. 290—292.

Hofer, B.: Die Schlafsucht des Karpfens. in: Allg. Fischerei-Ztg. v. 19 1904 Nr. 3 p. 48—49 1 Fig [*Trypanoplasma cyprini*].

—: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Jones, R.: The Trypanosoma of Sleeping Sickness. in: Journ. of mental sc. v. 50 1904 Nr. 209 p. 262—266.

Kermorgant, A.: Relation d'une enquête relative à la maladie du sommeil dans le gouvernement général de l'Afrique occidentale française. in: Ann. d'hyg. et de méd. colon. v. 7 1904 Nr. 2 p. 274—284.

Kilbourne, E. D.: Some experiments with the trypanosoma Evansi. in: Journ. Assoc. Mil. Surg. U. S., Carlisle, Pa. 1904 v. 14 p. 248—250.

Laveran, A.: Au sujet du rapport de M. R. Blanchard sur un travail de M. Brumpt. in: Bull. Acad. de méd. Paris, ser. 3 v. 51 1904 Nr. 25 p. 523—524.

—: Immunité naturelle des Cynocéphales pour les trypanosomiases, activité de leur sérum sur les trypanosomes. in: C. R. Acad. Sc. Paris v. 139 1904 Nr. 3 p. 177—179.

—: Sur un nouveau Trypanosome d'une grenouille. in: C. R. Soc. Biol. v. 57 1904 Nr. 27 p. 158—160 2 Textfig.

—: Le trypanroth dans le traitement de quelques Trypanosomiases. in: C. R. Acad. Sci. Paris v. 139 1904 p. 19 (4. Juli).

Laveran, A. & F. Mesnil: Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904 (Masson & Cie.) 8° XII u. 418 p. 61 Fig. 1 Taf. 10 Frc.

Martini, E.: Protozoen im Blute der Tropenkolonisten und ihrer Haustiere. in: Verh. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte 75. Vers. 1904 Tl. 2 p. 501—503.

Mesnil, F.: A propos de communication de M. Billet. in: C. R. Soc. biol. v. 57 1904 Nr. 27 p. 164—165.

Montel: Épizootie de Surra, à Hatim. in: Ann. d'hyg. et de méd. colon. v. 7 1904 Nr. 2 p. 219—221.

Nicolas, A.: La maladie du sommeil; les trypanosomes; la tsêtsé. in: Méd. anecdot. Paris 1904 p. 59—65.

Novy, F. G., J. Mc Neal & Ch. B. Hare: The cultivation of the Surra Trypanosome of the Philippines. in: Journ. amer. med. Assoc. Chicago 1904 v. 42 28. Mai p. 1413—1417.

Oltmanns, F.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Pease, H. T.: Surra and dourine. in: Vet. Journ. London 1904 n. ser. v. 9 p. 187—196.

Penning, C. A.: Trypanosomosen in Ned.-Indië. Semarang-Soerabaia (G. C. J. von Dorp & Co.) 1904 8° 60 p. 1 Taf.

Perkins, R. G.: Trypanosomiasis. in: Cleveland Med. Journ. v. 3 1904 p. 304—315.

Polliot, H.: La maladie du sommeil. (Abstr.) in: Ann. méd.-chir. du centre. Tours 1904 v. 4 p. 195.

Rennes: Contribution à l'étude d'une Trypanosome Nord-Africaine. in: Rec. de méd. vétér. v. 81 1904 Nr. 8 p. 248—250.

Ruata, G. R.: La tripanosomiasi nell' uomo. in: Riforma med. Ann. 20 1904 Nr. 14 p. 376—378.

Schilling: Die Bekämpfung der Nagana-Krankheit in Togo. in: Dentscb. Kolonialbl. 1904 Nr. 1.

Schoo, H. J. K.: Trypanosomen. in: Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1904 v. 40 p. 716—720.

—: cf. snb Haemosporidia.

Sergent, Edm. & Ét.: Seconde note snr une trypanosomiase des dromadaires d'Algérie. in: C. R. Soc. biol. v. 56 1904 Nr. 20 p. 914—915.

Thiroux: Snr un nonvean Trypanosome des Oiseaux. in: C. R. Acad. Sci. Paris v. 139 1904 (11. Juli) 5 Fig.

II. Subkl.: ***Choanoflagellata.***

III. Snbkl.: ***Cystoflagellata.***

IV. Snbkl.: ***Dinoflagellata.***

Oltmanns, F.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

III. Kl.: *Sporozoa.*

I. Snbkl.: ***Telosporidia.***

I. Ordn.: *Gregarinida.*

Léger, L. et O. Dubosq: Nouvelles recherches snr les Gregarines et l'épitbelinm intestinal des Tracbéates. in: Arch. f. Protistenkunde v. 4 H. 3 1904 p. 335—383.

Lühe, M.: Ban nnd Entwicklung der Gregarinen. I. Teil: Die Sporozoiten, die Wacbstnmsperiode nnd die ansgebildeten Gregarinen. in: Arch. f. Protistenkunde v. 4 H. 1 1904 p. 88—198 31 Textfig.

Paehler, F.: Über die Morphologie, Portpflanzung nnd Entwicklung von Gregarina ovata. in: Arch. f. Protistenkunde v. 4 H. 1 1904 p. 64—87 Taf. V u. VI 1 Textfig.

Woodcock, H. M.: On Cystobia irregularis (Mont.) and allied „Neogamons" gregarines. in: Arcb. zool. expérim. et gén., Ser. 4 v. 2 Notes et Revue 1904 Nr. 8 p. 125—128.

II. Ordn.: *Coccidiida.*

Woodcock, H. M.: Notes on Sporozoa. I. On klossiella muris gen. et spec. nov. Smitb and Jobnson 1902. in: Quart. Journ. Micr. Sc. N. S. Nr. 189 (v. 48 P. 1) 1904 p. 153—163 9 Fig.

III. Ord.: *Haemosporidiida.*

[Hier die Literatnr über Malaria, Piroplasmose nnd ähnlicbe Krankbeiten.]

d'Arenberg, A.: La suppression du paludisme par la destruction des monstiqnes. Expérieuce faite à Ismailia. in: Ann. d'hyg. pnbl. et de méd. légale ser. 4 v. 1 1904 p. 443—446.

Atti della Società per gli studi della Malaria v. 5 1904 Roma 8° 900 p. [Zahlreicbe Abbandlungen von italienischen und französiscben Forschern über Epidemiologie nnd Prophylaxe der Malaria. Morphologisch Wicbtiges über die Parasiten selbst dürfte nicbt darin enthalten sein.]

Bassenge, R.: Zur Therapie und Prophylaxe chronischer Malaria. in: Deutsch. med. Wochenschr. v. 30 1904 p. 906–908.

Baxter, G. E.: Clinical diagnosis of the malarial parasite. in: Illinois Med. Journ. n. s., v. 6 1904 p. 66–71.

Billet, A.: De l'incubation dans le paludisme. in: Bull. méd. de l'Algerie v. 15 1904 p. 285–293.

—: cf. sub Enflagellata.

Bindi, F.: Quartana primitiva precoce. in: Clin. mod. Pisa v. 10 1904 p. 221—226.

—: Terzana primitiva tardiva a lungo periodo di incubazione. in: Gazz. d. osped. Milano 1904 v. 25 p. 333—335.

— Osservazioni ematologiche sui malarici cronici e cachettici. in: Gazz. internat. di med. Napoli. 1904 v. 7 p. 67.

von dem Borne, E. W. K.: Over infectie en reinfectie bij malaria. in: Geneesk. Tijdschr. voor Nederl.-Indië v. 44 Lief. 3 1904 p. 226–236.

Bowhill, T. & C. A. Le Doux: A contribution to the study of piroplasmosis canis — malignant jaundice of the dog. in: Journ. of Hyg. v. 4 1904 p. 217—218 1 pl.

British medical Association. Discussion on the prophylaxis of Malaria (72. ann. Meeting of the Brit. med. Assoc. 1904; Section of tropical diseas). in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 629—642. [Vorträge von J. W. W. Stephens, S. P. James, S. R. Christophers, R. Ross, E. P. Sewell, H. Strachan, R. Duncan, K. Mc Leod, H. Fink etc.]

Brumpt, E.: Contribution à l'étude de l'évolution des Hémogregarines et des Trypanosomes. in: C. R. Soc. Biol. v. 57 1904 p. 165–167.

—: cf. sub Euflagellata.

Busck, Gunni: The influence of daylight on the progress of malaria, more especially in connection with quinine treatment. in: American Journ. of the med. sc. v. 128 1904 Nr. 1 p. 129—134.

Cardamatis, J.: Quel est le rapport du paludisme avec les tumeurs malignes? in: Grèce méd. Syra 1904 v. 6 p. 10.

Carpanetti, G.: Sur le paludisme et son étiologie (hématozoaire et monstique) étudiés plus particulièrement dans la région de Bône (Algérie). Lyon 1904 8° 88 p.

Cartier, E.: Observation d'un malade atteint de paludisme et du bouton de Biskra. in: Lyon méd. v. 102 1904 p. 356–359.

Casalta, Ch. M.: Contribution à l'étude du paludisme en Corse, envisagé particulièrement au point de vue de sa prophylaxie et de son traitement. Paris [Thèse] 1904 8.

Castellani, A. u. A. Willey: Observations on the Haematozoa of Vertebrates in Ceylon. in: Spolia Zeylanica v. 2 Part 6 1904 p. 78–92 1 Taf.

Celli, A.: Die Versuchsstationen der epidemiologischen und prophylaktischen Malariastudien in Italien. (Sitzungsber. in der ital. Gesellsch. f. Malariaforschung v. 25. Juni 1904.) in: Centralbl. f. Bakter. Abt. I Ref. v. 35 1904 Nr. 12, 13 p. 379—385.

Dale, T. H.: Pyroplasmosis of the donkey. in: Veter. Journ. n. s., v. 9 1904 p. 293–300.

De Blasi, A.: Emoglobinuria nei malarici: ancora un caso di ittero-emoglobinuria da chinina. in: Gazz. degli osped. Milano v. 25 1904 p. 619—621.

Dempwolff: Bericht über eine Malaria-Expedition nach Deutsch-Neu-Guinea. in: Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. v. 47 1904 p. 81—132.

Duboscq, O.: cf. sub Euflagellata.

Eysell, A.: Über Fang, Aufbewahrung und Versand von Stechmücken. in: Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. v. 8 1904 p. 300—315.

Fajardo, F.: O Impaludismo. Ensaio de um estudio clinico. Rio de Janeiro 1904 8° VIII u. 422 p. 35 Fig. 2 Fieberkurven.

—: Paludismo e mosquitos no Rio de Janeiro. in: Brazil-med. Rio de Janeiro v. 18 1904 p. 188—190.

Highet, H. C.: The Fevers of Bangkok. in: Journ. Tropic. Med. v. 7 1904 Nr. 19 p. 301—307. [Malaria, Kalaazar.]

Högyes, E.: Vizsgálatok a malaria-parasiták tovabbfeglödéséröl az anophelesekben [Unters. über die Entwicklung der Malariaparasiten in Anopheles]. in: Orvosi hetil. Budapest 1904 v. 48 p. 185.

Hope, L. M.: Notes on 1784 cases of malaria. in: Journ. trop. Med. v. 7 1904 p. 182—184.

Hunt, W. J.: Interesting cases of malaria which simulated appendicitis. in: New York State J. M. v. 4 1904 p. 222.

Jackson, T. W.: Concerning the invasion period of the malignant (estivoautumnal) tertian malarial parasite. in: Amer. Med. Philadelphia v. 8 1904 p. 67.

James, S. P.: The success of mosquito destruction operations. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 631—632. (Brit. med. Associat.)

Jennings, E.: A preliminary note on pyroplasmosis found in man and in some of the lower animals. in: Indian med. Gaz. v. 39 1904 Nr. 5 p. 161—165 3 Taf.

Kanellis, S.: Quelques mots sur l'étiologie du paludisme. in: Rev. méd. de l'Afrique du Nord, Alger. v. 7 1904 p. 103—105.

Kermorgant: Prophylaxie du paludisme par la protection mécanique des habitations, à l'aide de toiles métalliques. in: Ann. d'hyg. et méd. colon. v. 7 1904 Nr. 3 p. 340—348.

Knox, E. B.: The nomenclature of malaria. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2278 p. 471

Laveran, A.: Sur les culicides de la Guinée française et sur l'index endémique du paludisme dans cette région. in: C. R. Soc. Biol. v. 56 1904 Nr. 12 p. 555—556.

—: Anopheles et Paludisme à Madagascar. Prophylaxie du Paludisme. in: Bull. Acad. de Med. Paris, 3. ser. v. 52 1904 p. 197—218.

Legendre, J.: Notes sur le paludisme à Phu-Lang-Thuong. in: Ann. d'hyg. et de méd. colon. v. 7 1904 Nr. 3 p. 354—357.

Legrain, E.: La lutte contre le paludisme d'après les nouvelles doctrines; la ligue contre le paludisme en Algérie. in: Rev. méd. de l'Afrique du Nord, Alger 1904 v. 7 p. 17, 34, 53.

Leon, N.: Vorläufige Mitteilung über den Saugrüssel der Anopheliden. in: Zool. Anz. v. 27 1904 p. 730—732 1 Fig.

Lunardi, G.: La malaria nella provincia di Parma. in: Clin. mod. Pisa 1904 v. 10 p. 175—178.

Luzzatto, M.: Perniciosa con sindrome cerebellare et anastria; e terzana estiva con sintomi bulbari. in: Riforma med., Palermo-Napoli 1904 v. 20 p. 396—399.

Martini, E.: Symptome, Wesen und Behandlung der Malaria (Wechselfieber). Im amtl. Auftr. bearb. Berlin (Scholtz) 1904 8° 39 p. 35 Fig. Pr. 1 M.

—: Symptome, Wesen nnd Bebandlung der Malaria. in: Ärztl. Sachverst. Zeit. v. 10 1904 p. 173, 193.

—: cf. suh Enflagellata.

Mesnil, F.: cf. suh Euflagellata.

Montgomery, R. E.: A preliminary note on the occurrence of Piroplasma bovis in England. in: Veterinary Journ. N. S. v. 10 1904 Nr. 55 p. 30—35 1 Fig.

Mori, A.: Prophylaxis of Malaria. in: Jonrn. of trop. med. v. 7 1904 Nr. 14 p. 214—217.

Motas: Contribution à l'étnde de la piroplasmose ovine (Cârceag). in: Arhiva veterinaria v. 1 Nr. 1 u. 2. Bukarest 1904.

Nicolle, C.: Sur une hémogrégarine de Lacerta ocellata. in: C. R. Soc. biol. v. 56 1904 Nr. 20 p. 912—913 8 Textfig.

Nuttall, G. H. F.: Canine piroplasmosis. in: Journ. of hyg. v. 4 1904 Nr. 2 p. 219—252 2 Taf.

Papacosta, G.: A case of concurrent attack of urticaria and malarial fever. in: Lancet 1901 v. 1 p. 92.

Polverini, G.: Osservazioni e note snlla malaria in India. in: Il Morgagni Ann. 46 1904 p. 385—408.

Reynand, G.: Infection malarienne sur un navire en mer. in: Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale sér. 4 v. 1 1904 p. 440—443.

Rickmann, W.: Beobachtnngen über Texasfieberparasiten. in: Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. v. 30 1904 H. 4/5 p. 516—519.

Rivers, J. H.: Report of blackwater fever in the Soudan. in: Journ. Roy. Army Med. Corps, London 1904 v. 2 p. 156—160.

Ross, R.: The anti-malaria experiment at Mian Mir. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 632—635. (Brit. med. Assoc.)

Russell, F. F.: The results of two seasons anti-malarial work. in: Journ. Assoc. Mil. Surg., Carlisle, Pa. v. 14 1904 p. 157—161.

Sangregorio, A.: La nico febbrina nelle fehhri da malaria. in: Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene Ann. 26 1904 Nr. 5 p. 243—253.

Schaudinn, F.: Die Malaria in dem Dorfe „St. Michele di Leme“ in Istrien und ein Versnch zn ihrer Bekämpfung. in: Arb. a. d. kais. Gesundbeitsamt v. 21 H. 3 1904 p. 403—473.

Schmidt, A.: Die Zeckenkrankheit der Rinder — Haemoglobinaemia ixodioplasmatica boum — in Dentsch-, Englisch-Ostafrika und Uganda. in: Arch. wiss. prakt. Tierh. v. 30 1904 p. 42—101.

Schoo, H. J. M.: Piroplasmen en trypanosomen hij mensch en dier. in: Geneesk. Bl. u. Klin., Haarlem 1904 v. 11 p. 29—52 2 Taf.

Schubert, W.: Über Malariafieber in den Tropen. [Dissertation.] Straßbnrg 1904 8.

Sewell, E. P.: The results of the campaign against malaria in Mian Mir. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 635—637. (Brit. med. Associat.)

Souls: La Lutte contre le paludisme dans l'est Africain allemand. in: Arch. méd. naval. v. 61 1904 Nr. 2 p. 81—89.

Stanwood, E.: Suppression of malaria on the Isthmus. in: Med. Rec. New York v. 65 1904 p. 309.

Stephens, J. W. W.: Discnssion on the prophylaxis of malaria. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 629—631. (Brit. med. Associat.)

Suzuki, R.: Untersuchungen über die die Malaria übertragenden Stechmücken Anopheles auf der Insel Etajima in Japan (Japanisch mit dentschem Anszug). in: Mitt. d. med. Gesellsch. zu Tokyo 1904 v. 18 p. 1—16.

Symes, J. O.: A case of aestivo-autumnal malarial fever with parasites of an unusual type. in: Bristol Med.-Chir. Journ. v. 22 1904 p. 126—128 1 Taf.

Theiler, A.: Die Piroplasmosis des Maultieres und Esels. in: Ztschr. f. Tiermed. v. 8 1904 H. 5 p. 282—388.

Trolard: Étiologie de la malaria, proposition d'une experimentation. in: Bull. méd. de l'Algerie, Alger v. 15 1904 p. 28.

Vera, C. A.: El paludismo en la República. in: Anal. san. mil., Buenos Aires 1904 v. 6 p. 191—194.

Verney, L.: La maturazione dei gameti nei parassiti della malaria umana. in: La Medicina italiana Ann. 2 1904 Nr. 14—15.

West, H. A.: The treatment of malarial fever. in: Indian Lancet, Calcutta 1904 v. 23 p. 661—666.

Wilson, J. B.: Notes of a case of cerebral embolism due to malaria. in: Journ. R. Army Med. Corps London 1904 v. 2 p. 349—351.

Wood, F. C.: A simple and rapide chromatin stain for the malarial parasite. in: Proceed. New York Pathol. Soc. 1903/04 v. 3 p. 42—48.

Ziemann, H.: Über Chininprophylaxe in Kamerun. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 8 1904 p. 329—373.

II. Subkl.: ***Neosporidia.***

I. Ordn.: *Myxosporidia.*

Fuhrmann, O.: Une maladie parasitaire des palées et des bondelles. in: Bull. suisse de Pêche et Pesciculture Ann. IV 1904 Nr. 7 p. 98—101 3 Fig. [Henneguyia zschokkei.]

Hofer, B.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Lutz, A. & A. Splendore: Über Pebrine und verwandte Mikrosporidien. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. 1 (Orig.) v. 36 Nr. 36 Nr. 5 1904 p. 645—650 2 Taf. 1 Textfig.

Pérez, Ch.: Sur une Microsporidie parasite des Carcinus maenas. in: C. R. Soc. biol. v. 57 1904 Nr. 27 p. 214—215.

Plehn, M.: Über die Drehkrankheit der Salmoniden [Lentospora cerebralis (Hofer) Plehn]. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 146 Taf. V 7 Textfig.

Stempell, W.: Über Nosema anomalum Monz. in: Arch. f. Protistenk. v. 4 H. 1 1904 p. 1—42 Taf. I—III.

II. Ordn.: *Sarcosporidia.*

Koch: Die experimentelle Übertragung der Miescher'schen Schläuche. in: Berl. klin. Wochenschr. 1904 v. 51 p. 321.

IV. Kl.: ***Infusoria.***

1. Subkl.: ***Ciliata.***

de Beauchamp, P.: Sur la fixation à l'état d'extension des animalcules contractiles et spécialement des vorticelles. in: Bull. Soc. zool. France v. 9 1904 p. 26—27.

Cohn, L.: Zwei parasitische Infusorien aus Discoglossus pictus. in: Arch. f. Protistenk. v. 4 H. 1 1904 p. 43—63 Taf. IV.

Fauré, E.: Sur la Structure du Protoplasma chez les Infusoires ciliés. in: C. R. Soc. biol. v. 57 1904 Nr. 26 p. 123—125.
—: Note sur la structure du pédoncule du Carchesium aselli (Eng.). in: C. R. Soc. Biol. v. 57 1904 Nr. 24 p. 19—20.
—: La vorticelle muguet. in: La Nature Ann. 32 Sem. 2 1904 p. 33—34 2 Fig.
Greeley, A. W.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.
Hamburger, C.: Die Konjugation von Paramaecium bursaria Focke. in: Arch. f. Protistenk. v. 4 H. 2 1904 p. 199—239 Taf. VII—IX 2 Textfig.
Hofer, B.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.
Jennings, H. S.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.
Küster, E.: Ciliaten in Valoniazellen. in: Arch. f. Protistenk. v. 4 H. 3 1904 p. 384—390.
Léger, L. et O. Duboscq: Notes sur les Infusoires endoparasites. I. Les Astomata représentent-ils un groupe naturel. in: Arch. zool. expérim. ser. 4 v. 7 1904, Notes et Revue Nr. 6 p. 98—100.
Mitrophanow, P.: Note sur les corpuscules basaux des formations vibratiles. in: Arch. Zool. expér. ser. 4 v. 2 1904, Notes et Revue Nr. 10 p. 167—169 2 Fig.
—: Etude sur la structure, le développement et l'explosion des trichocystes des Paramécies. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 78—92 9 Textfig.
Pütter, A.: Die Reizbeantwortungen der ciliaten Infusorien. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. v. 3 H. 4 1904 p. 406—454 14 Textfig.
—: cf. sub Protozoa, Allgemeines.
Tsujitani: Über die Reinkultur-Methode der Infusorien. (Japanisch mit deutschem Auszug.) in: Mitt. d. med. Gesellsch. zu Tokyo 1904 v. 18 H. 4 p. 224—230.
Veneziani, A.: Über die physiologische Einwirkung des Radiums auf die Opalina ranarum. (Vorl. Mitteil.) in: Centralbl. Physiol. v. 18 1904 p. 130—134.
Verworn, M.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

II. Subkl.: ***Suctoria.***

Protisten von fraglicher systematischer Stellung.

Baur, E.: Myxobakterien-Studien. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 92—121 Taf. IV 3 Textfig.
Römer, R.: Vier gevallen van febris recurrens. in: Geneesk. Tijdschr. voor Nederl.-Indië v. 44 Lief. 3 1904 p. 259—271.
Sandwith, F. M.: Relapsing fever in Egypt. in: Indian Lancet, Calcutta v. 23 1904 p. 967—973.

Literatur über die sog. Leishman-Donovan-Körper.

(Fraglich, ob zu den Hämosporidien oder Trypanosomen gehörig.)

Adamson, H. G.: The Leishman-Donovan body in Delhi boil. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2270 (2. Juli) p. 42.
Bentley, A.: Notes upon Kala-Azar and the new parasite. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 652—655 (Brit. med. Associat.).

British medical Association: Discussion on the Leishman-Donovan body (72. ann. Meeting of the Brit. med. Assoc., 1904; Section of tropical diseas.). in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 642—663. [Vorträge von: B. Leishman, L. Rogers, C. Donovan, A. Bentley, R. Christophers, A. Castellani, L. Philippi, P. Manson, D. Bruce, J. Hutchinson etc.]

Castellani, A.: Leishmania Donovani in Ceylon. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 656—657 2 Fig. (Brit. med. Associat.).

Christopheas, S. R.: Tropical splenomegaly and oriental sore. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 655—656 (Brit med. Associat.).

—: On a Parasite found in Persons suffering from Enlargement of the Spleen in India, Second Report. in: Scientific Memoirs by Off. of the med. a sanit. dep. of the governm. of India New Ser. Nr. 11 Calcutta 1904 p. 1—22 2 Taf.

Donovan, C.: Piroplasmosis. A History of the Discovery of the Donovan-Bodies in Madras. in: Indian med. Gaz. v. 39 Nr. 9 1904 p. 321—327.

—: Hnman piroplasmosis. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 651—653 (Brit. med. Associat.)

Guiteras, S.: Espleuomegalia Tropical. El nerevo Parasito de Leishman-Donovan. in: Revista de Medic. trop. 1904 (May).

Laveran, A. & F. Mesnil: Sur un protozoaire nouvean (Piroplasma Donovani Lav. et Mesn.) Parasite d'une fièvre de l'Inde. In: Ann. d'hyg. et de méd. colon. v. 7 1904 Nr. 2 p. 226—231 17 Fig.

Leishman, W. B.: Discussion on the Leishman-Donovan body. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 642—645 1 Fig. (Brit. med. Associat.).

Leishman: The nature of the Leishman-Donovan body. [Bemerkungen zu einem Telegramm von Rogers's: „Trypanosoma developed in cnltures of Leishman bodies."] in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2270 (2. Juli) p. 29.

Manson, P.: The Leishman-Donovan body in nlcerated surfaces: a possible ronte of its escape from the human body. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2270 (2. Juli) p. 11.

Marchand, F.: Über neue Protozoeninfektionen beim Menschen. in: Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 51 1904 p. 630.

Mathias, H. B., Blackwell, C. T. & W. B. Leishman: Two cases of dnm-dnm fever. in: Jouru. R. Army medic. Corps. v. 2 1904 p. 303—319.

Mc Farland, J.: The Leishman-Donovan blood parasites. in: Amer. Med. Philadelphia v. 7 1904 p. 888—891.

Mesnil, F., Nicolle, M. & P. Remlinger: Sur le protozoaire dn bonton d'Alep. in: C. R. Soc. biol. v. 57 1904 Nr. 27 p. 167—168.

Philipps, L.: Note on the occurrence of the Leishman-Donovan parasite in Arabia and Egypt. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 657, cf. auch: Journ. trop. Med. v. 7 1904 Nr. 15 p. 236.

Rogers, L.: Cachexial fever in India associated with Cunningham-Leishman-Donovan bodies. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 645—648 (Brit. med. Associat.).

—: Cultivation of the protozoal parasite of cachexial fever, and the development of trypanosoma from Cunningham-Leishman-Donovan bodies. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2281 p. 648—650 3 Fig. (Brit. med. Associat.).

—: Preliminary note on the development of Trypanosoma in cultures of the Cunningham-Leishman-Donovan Bodies of cachexial fever and Kala-Azar. in Lancet 1904 v. 2 Nr. 4 p. 215—216.

Ross, R.: Trypanosomes and the Leishman-Donovan bodies. in: Brit. med. Journ. 1904 Nr. 2271 (9. Juli) p. 98.

Swan, J. G.: Case of continned fever with Leishman-Donovan bodies. in: Brit. med. Journ. 1904 v. 1 p. 1487.

Wright, J. H.: Protozoa in a case of tropical ulcer (Aleppo boil). in: Journ. Cutan. Diseas. incl. Syphil. New York 1904 v. 2 p. 1—9 4 Taf.

Pseudo-Protozoen?

(Hier Literatur über die fraglichen Erreger der Vaccine, Variola, Tollwut, der perniciösen Geschwülste etc., soweit sie von den Autoren für Protozoen gehalten werden.)

Billet, A.: Sur les corpuscules parannncléaires des hématies de la tarente d'Algerie. in: C. R. Soc. biol. v. 57 1904 Nr. 27 p. 160—161 1 Textfig.

Bosc, F. J.: Note préliminaire à l'étude des parasites du cancer. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 56 1904 p. 337—339 — Recherches sur le parasitisme du cancer (formes parasitaires non enkysties). 1. Note. in: Ibidem p. 470—472. — 2. Note. in: Ibidem p. 472—473.

—: Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires) 1. et 2. Mémoire. in: Centralbl. f. Bakter. Abt. I Orig. v. 36 p. 487—493; p. 630—645 (wird fortgesetzt).

Brinckerhoff, W. R.: On the infectionsness of the late stage of the skin lesion in variola. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 284—297.

Calkins, G. N.: The life history of Cytoryctes variolae Guarnieri. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 136—172 5 Taf.

Councilman, W. F., Magrath, G. B. & W. R. Brinckerhoff: The pathological anatomy and histology of variola. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 12—135 17 Taf.

Ewing, J.: Comparative morphology of vaccine bodies. in: Proceed. New York Pathol. Soc. 1903/04 v. 3 p. 203—213.

Leyden, E. v.: Weitere Untersuchungen zur Frage der Krebsparasiten. in: Zeitschr. f. Krebsforsch. v. 1 1904 H. 4 p. 293—314 2 Taf.

Magrath, G. B. & W. R. Brinckerhoff: On the occurrence of Cytoryctes variolae Guarnieri in the skin of the monkey inocnlated with variola virus. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 173—180 2 Taf.

— —: The infectionsness of the blood in variola. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 267—383.

— —: On experimental variola in the monkey. in: Journ. med. Research Boston v. 1904 p. 230—346 1 Taf.

Magrath, G. B., Brinckerhoff, W. R. & J. R. Bancroft: The leucocyte reaction in variola. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 247—266.

Negri, A.: I resultati delle nuove ricerche sull' eziologia della rabbia. in: Lo Sperimentale. Arch. di biol. norm. e patol, Ann. 58 1904 fasc. 2 p. 273—286.

Saul, E.: Beiträge zur Biologie der Tumoren. in: Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 30 1904 p. 494—496 5 Fig.

—: Über Reinkulturen von Protozoen. in: Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1904 H. 1/3 p. 374—376.

Schmidt, O.: Mitteilung über einen in den malignen Geschwülsten ausnahmslos vorkommenden Parasiten. in: München. med. Wochenschr. Jahrg. 51 1904 p. 629—630.

SCHUBERG, A.: Bemerkungen zu einigen Beobachtungen FEINBERG's an „mit Coccidien angefüllten Darmcysten von Kaninchen". in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 1 1904 p. 122—225.

SIEGEL, J.: Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. in: Sitzungsber. Akad. Berlin Nr. 29, 30 (9. Juni) 1904 p. 553—558.

SOUTHARD, E. E.: The central nervous system in variola. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 298—300.

v. WASIELEWSKI: Über infektiöse Epithelerkrankungen und ihre Beziehungen zu den Epitheliomen. in: Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 30 1904 p. 1043—1046.

TYZZER, E. E.: The etiology and pathology of vaccinia. in: Journ. med. Research Boston v. 11 1904 p. 180—229 4 Taf.

Über den feineren Bau von Didinium nasutum O. F. M.

Von

Karel Thon (Prag).

(Hierzu Tafel XII u. XIII und 3 Textfiguren.)

Inhalt.

Einleitung.

Während meines Aufenthalts im zoologischen Institute in München erschien zufälligerweise in Kulturen eine bedeutende Menge des Didinium nasutum. Auf Vorschlag meines hochgeehrten Lehrers

Herrn Prof. R. Hertwig unternahm ich die Untersuchung dieses merkwürdigen Infusors, namentlich in bezug auf den bisher nicht genügend durchforschten Fangapparat. Dabei wurden auch manche interessante Strukturen im Kern aufgefunden. Demgemäß werden wir in nachfolgenden Zeilen unsere Aufmerksamkeit auf zwei Punkte richten, nämlich 1. die Struktur und Bedeutung des Fangapparates und die damit im engen Zusammenhang stehenden Einrichtungen, und 2. die Kernstrukturen. Aus dem Kreise meiner Untersuchungen habe ich vollständig die Verhältnisse und das Schicksal des Mikronukleus ausgelassen. Trotz aller Mühe und langem Suchen, dem viel Zeit zu Opfer gefallen ist, war es unmöglich den Mikronukleus aufzufinden. Vielleicht wird sich beim Untersuchen der Konjugation die Gelegenheit finden, die Herkunft und die weiteren Schicksale dieses Organoids zu ermitteln.

Das Didinium nasutum war schon dem alten O. F. Müller bekannt. Der Gattungsname wurde 1859 von Stein aufgestellt. Eine spezielle Aufmerksamkeit hat diesem Tiere in seiner bekannten Arbeit (1873) Balbiani gewidmet; seine Resultate waren bisher, obzwar nicht ohne Bedenken, maßgebend. Auch bei Entz und Maupas finden sich einige Bemerkungen über das Tier. Neuere Untersuchungen über eine nahe verwandte Form Did. balbiani Bütschli stammen von Schewiakoff, und in neuester Zeit hat Voigt eine neue Art D. cinctum kurz beschrieben.

Die Gattung Didinium bildet mit einigen nahestehenden Formen die Unterfamilie Cyclodininae Stein — Familie Enchelidae (Ehrb.) — Ordnung Gymnostomata Bütschli. — Phylogenetisch stellt die Unterfamilie der Cyclodininae einen der äußersten Nebenäste an dem Stamme der Gymnostomata dar. Neuere Erfahrungen und die neu entdeckten Arten führen zu dem Schluß, daß diese Gruppe einen eigenen seitlichen Weg eingeschlagen hat, sowie daß einzelne phylogenetische Differenzierungen bei nächstverwandten Arten auf verschiedenen Differenzierungsstufen stehen geblieben sind.

Technische Bemerkungen.

Eine eingehendere Untersuchung der lebenden Tiere, namentlich wenn diese jagen, ist wegen ihrer außerordentlichen Schnelligkeit fast unmöglich. Daher wurde sie nur in wenigen Fällen vorgenommen und hauptsächlich zu dem Zwecke, die an Präparaten gewonnenen

Resultate zu kontrollieren. Zu dem Zweck habe ich mit gutem Erfolg das Rousselet'sche Kompressorium benutzt. Um die verschiedenen Stadien der Nahrungsaufnahme verfolgen zu können, habe ich in der folgenden Weise operiert. Einige wenige Didinien wurden in einem möglichst kleinen Wassertropfen auf ein Objektglas mit Ausschliff gelegt. Zu diesen wurde ein anderer Tropfen mit wo möglich vielen Paramaecien zugefügt. Unter dem Mikroskop wurden einzelne, nur eine äußerst kurze Zeit dauernde Stadien verfolgt und durch ein Einspritzen der Pikrinessigsäure aus einer feinen Pipette abgetötet. Der Tod trat momentan ein. In einigen Fällen habe ich zum Abtöten Formol benutzt und die Tiere in ungefärbtem Zustande untersucht; das mußte aber möglichst bald geschehen, da die Infusorien sofort aufquellen. — Das Fixieren geschah in den meisten Fällen mit Pikrinessigsäure, die bei diesem Tiere vorzügliche Resultate geliefert hat. Demgegenüber hat Sublimat bei weitem nicht so gute Dienste geleistet. Das Fixieren dauerte 12—20 Stunden. Einzelne Fangstadien wurden dann unter dem Präpariermikroskop herausgesucht, einzeln gefärbt und als totale Präparate im Kanadabalsam eingeschlossen. Für das Verfolgen der Nahrungsaufnahme sind diese Präparate von großem Werte, aber feinere Strukturen sind verdeckt oder unsichtbar. Das gilt hauptsächlich von dem Kern. Das Färben geschah durch Boraxkarmin oder durch die Mallory'sche Methode. Das Boraxkarmin muß man eine sehr lange Zeit differenzieren, am besten bei einer etwas höheren Temperatur (25°). Für eine totale Übersicht der Verhältnisse, speziell aber für die Bildung der Nahrungsvakuole, ist die erstere Methode vorteilhafter. Nach der Mallory-schen Färbung werden die Totalpräparate zu stark gefärbt, dafür sind aber die Strukturen am vorderen Körperende und auf dem hervorgestülpten mittleren Strang sehr deutlich. Dasselbe gilt von der Heidenhain'schen Methode: der Körper ist durch zahlreiche Endoplasmaeinschlüsse ganz schwarz. Sehr wenig hat sich Delafield's Hämatoxylin bewährt. Mit diesem Farbstoff habe ich der Kontrolle wegen einige herausgedrückte und auch durch einen schwachen Druck mehr oder weniger geöffnete Kerne gefärbt.

Die Details sind an den totalen Präparaten fast vollständig unsichtbar. Da ist die Schnittmethode unumgängig notwendig. Die Tiere wurden nach dem Fixieren und Auswaschen in toto gefärbt. Die besten Resultate haben die Methoden von Heidenhain und Mallory geliefert. Hauptsächlich diese letztere brachte die schönsten Präparate hervor und führte zu überraschenden Resultaten in bezug auf die Nukleolarsubstanz. Es muß aber bemerkt werden,

daß diese Methode sehr launenhaft und sehr wenig dauerhaft ist. Immerhin aber tritt die prachtvoll gelb, orange oder rot gefärbte Nukleolarsubstanz aus der violetten oder bläulichen Grundlage heraus. Man muß sehr gründlich die Phosphormolybdensäure auswaschen. Es ist vom Interesse, daß die fressenden Tiere sich viel schlechter färben. Die Zeitdauer der Färbung in den einzelnen Flüssigkeiten ist verschieden, man muß sie empirisch feststellen. Gewöhnlich beträgt sie 2 Minuten in einzelnen Farbenmischungen, das Beizen mit Phosphormolybdensäure muß länger dauern. Das Färben geschah bei kleiner Anzahl von Tieren in Uhrschälchen, bei einer größeren Menge, wo es sich nicht um einzelne Stadien handelte und die Tiere in Massen präpariert wurden, habe ich mit großem Vorteil die Hand- und Wassercentrifuge und die im Münchener zoologischen Institut gebrauchten Gefäße benutzt. In diesen Gefäßen oder in Uhrschälchen wurden dann die Tiere mit verschiedenen Alkoholen behandelt und in das Xylol überführt. Dann wurden sie in ein gemischtes, überhitztes Paraffin (50—53°) eingebettet, einzelne Stadien in bloß einigen Exemplaren, andere in größeren Massen gemeinsam. Das Einbetten wurde immer unter dem Mikroskop auf dem heizbaren Objekttisch durchgeführt. Das Paraffin wurde in ein ganz flaches Uhrschälchen mit geradem Boden eingegossen, plötzlich starr gemacht, dann wurde mit einem schmalen Skalpell oder Harpune ein kleines, trichterförmiges Loch in Paraffin gemacht und die Tiere hierher übertragen. Das überflüssige Xylol wurde mit Fließpapier ausgezogen. Unter dem Mikroskop, wenn man den Objekttisch gleichmäßig und aufmerksam heizt, kann man eine große Menge von Tieren auf einen minimalen Raum leicht konzentrieren. — Die Schnitte wurden dann entweder gleich eingeschlossen, oder weiter gefärbt, gewöhnlich mit dem Eisenhämatoxylin und mit Rubin S nachgefärbt, oder es wurde die MALLORY'sche Methode mit dem Verfahren HEIDENHAIN's kombiniert. Das Schneiden bietet einige Unannehmlichkeit, was der dicken Cuticula und dem Reusenapparat zuzuschreiben ist.

Das Cytosarc.

Über die Gestalt des Körpers werden wir nicht viele Worte verlieren. Der Körper ist mit einer ziemlich dicken Cuticula bedeckt. An dieser kann man nicht die Pellicula und Alveolarschicht unterscheiden, sie sieht ganz homogen aus. Dort, wo die beiden Kränze

der Membranulae liegen, ist sie verdickt, namentlich am vorderen Kranze. Die Membranulae durchbohren sie ganz deutlich. Die Frage über die Beziehungen der Cilien zur Cuticula (Pellicula + Alveolarschicht) wurde in erschöpfender Weise von MAIER behandelt. Unter der Cuticula finde ich bei unserem Tier eine sehr dünne Schicht, die sich bei der HEIDENHAIN'schen Färbung stark tingiert. Dicht unter ihr liegen die Basalsäume der Membranulae. Das Corticalplasma ist nicht entwickelt, was auch bei manchen anderen kleinen Ciliaten vorkommt. Das Endoplasma reicht bis hart unter die Cuticula und die endoplasmatischen Einschlüsse liegen ebenfalls dicht unter ihr. Das Endoplasma hat seine übliche, dicht netzartige Struktur und enthält in gewöhnlichen Fällen eine Unmasse von verschieden großen, meist rundlichen Einschlüssen und Nahrungspartikelchen, die sich größtenteils mit Eisenhämatoxylinen stark färben und an den totalen Präparaten den feinen Bau des Endoplasmas vollständig verdecken.

Was die Bewimperung anlangt, so haben meine Untersuchungen nichts wesentlich Neues herausgebracht. Schon BÜTSCHLI und SCHEWIAKOFF haben mit Nachdruck betont, daß es sich hier nicht um einen einfachen Cilienkranz handelt, sondern um Membranellen. Diese hat neuerdings MAIER von gewöhnlichen Membranellen abgetrennt und als Membranulae bezeichnet. Beide Kränze, sowohl der vordere als auch der hintere, sind durch je einen einzigen Kranz der Membranulae gebildet. Eine jede Membranula ist aus der Verschmelzung einer einzigen Cilienreihe entstanden, deren Basalkörperchen ebenfalls zu einem einheitlichen Basalsaum miteinander verschmolzen sind, welch letzterer schief zu der Längsachse des Körpers orientiert ist. Die Membranulae des vorderen Kranzes sind etwas mächtiger entwickelt als die des hinteren. Die distalen Partien der Cilien sind ohne jeden Zweifel frei. An der Basis verschmelzen sie ganz deutlich, und es scheint mir, daß diese Verschmelzung bis etwa in $^1/_3$ der Länge reicht. An besonders geeigneten transversalen Schnitten (Fig. 14) kann man gut den Kranz der Basalsäume beobachten, sie sind jedoch bei unserer Form ziemlich klein. Was die phylogenetische Abstammung dieser Membranulae betrifft, haben sich bei einzelnen Arten einzelne Etappen erhalten. Soviel man aus der zu knappen Beschreibung von VOIGT ersehen kann, scheint in dieser Hinsicht das Did. cinctum, das 6 Wimperkränze besitzt, die niederste Stufe bewahrt zu haben. Aber die Beschreibung VOIGT's sagt gar nichts, ob es sich hier um einfache Cilienreihen oder tatsächlich um fertige Membranulae handelt. Dagegen ist aus den

Darstellungen Schewiakoff's bei D. balbianii ersichtlich, daß hier die einzelnen Cilien dicht nebeneinander stehen und nicht in erkennbarer Weise verschmolzen sind. Bei D. nasutum ist dieses Verschmelzen mindestens teilweise vollbracht. — Die anderen Cilien sind jedoch nicht ganz spurlos verschwunden. Bütschli betont auf Grund seiner und Schewiakoff's Forschungen, daß das D. balbianii ihm das einzige bekannte Beispiel sei, wo die Cilien verschwanden, aber die Körnchen erhalten blieben. Dasselbe konnte ich bei unserer Form konstatieren. An einem besonders geeigneten, tangentialen Schnitte (Fig. 11) erblicken wir Reihen von winzig kleinen, nach der Eisenhämatoxylin-Färbung sich tief färbenden Körnchen. Es sind das Basalkörperchen, welche erhalten blieben, nachdem ihre Cilien verschwunden waren. In der Nähe dieser Körnchenreihen zieht parallel mit diesen eine sehr feine Fibrille. Welche Bedeutung dieser Fibrille zukommt, kann ich definitiv nicht entscheiden, ebensowenig genau ermitteln, wie weit sie sich erstreckt. Nach der Analogie mit anderen Ciliaten und nach der gegenseitigen Lage der Körnchenreihen und der Fibrille selbst sollte man sie als eine Myofibrille bezeichnen, die ebenso wie die Basalkörperchen und Basalsäume dicht unter der Cuticula liegt. Gegen diese Deutung der Fasern als ein kontraktiles Element scheint aber zu sprechen, daß der Didiniumkörper fast gar nicht in dem bei Ciliaten gewöhnlichen Sinne kontraktil ist und sehr feste Form besitzt. Ferner könnte es sich hier um eine Neurofibrille handeln (vgl. darüber die Arbeit Neresheimer's).

Von einem jeden Basalsaume im vorderen Kranze zieht in das Endoplasma hin je eine Basalfaser.[1]) Im ganzen sind diese Basalfasern sehr lang und konvergieren alle zu einer Stelle. Schon an lebenden Tieren sehen wir eine Streifung, die vom vorderen Wimperkranze schief nach hinten gegen das Innere orientiert ist. Besser tritt dieses Verhalten an den mit Boraxkarmin gefärbten Präparaten hervor, sehr schön werden diese Fasern mit der Mallory'schen und Heidenhain'schen Färbung tingiert. Dann sind sie, besonders an den Schnitten, sehr deutlich. Allerdings kann man den ganzen Verlauf der Fasern von ihrer Basis bis an das distale Ende immer bloß bei einzelnen verfolgen, wenn diese zufälligerweise der ganzen Länge nach vom Schnitt getroffen wurden. — Besonders an hungernden Tieren, die durchsichtig geworden sind, aber ihre Gestalt noch nicht verloren haben, kann man recht deutlich sehen, daß alle diese Fasern

[1]) Ich bediene mich der Terminologie Maier's.

einen Trichter bilden, der, vom vorderen Kranze der Membranulae beginnend, sich verengt und nach hinten zu einer Stelle, die unter dem Kern liegt, hinzieht (Fig. 6). Einzelheiten finden wir an den Schnitten. Da treffen wir gewöhnlich wenige oder mehrere Membranulae mit ihren Basalsäumen und finden, daß von einem jeden Basalsaume eine feine Fibrille in das Innere zieht. Wieweit diese Basalfasern in ihrer ursprünglichen Form nach hinten ziehen, konnte ich nicht ermitteln. Zahlreiche von ihnen jedoch gehen bis zu jener schon erwähnten Stelle, die unter dem Kern liegt und welche wir später noch besprechen werden. Diese Fasern bezeichne ich als Fasern der zweiten Ordnung (Fig. 7 *mf*). Im Innern sind dieselben ebenso dick, wie an der Basis, sind aber öfters gebogen und verlaufen mehr oder minder wellenartig, so daß man den Eindruck bekommt, daß sie hier aus einer mehr elastischen und weicheren Substanz gebildet werden als an ihrer Ursprungsstelle. Alle Fasern, die von den Basalsäumen abgehen, gehen nicht bis zu jener Stelle unter dem Kern. Einige von ihnen endigen nach kürzerem oder längerem Verlauf frei im Endoplasma. Die Zahl der langen, bis zu dem Kern hinziehenden Fasern nimmt mit dem Alter zu. Übrigens variieren aber diese Verhältnisse in weiten Grenzen. Aus dem Mitgeteilten kommen wir zu dem natürlichen Schluß, daß die Längenunterschiede der einzelnen Fasern bloß Altersunterschiede sind, d. i. also, daß die langen Fasern der zweiten Ordnung aus den ursprünglichen Basalfasern durch deren Wachstum hervorgegangen sind.

Die Stelle, an der alle diese langen Fibrillen, sowie auch die distalen Fibrillen der Reusenstäbchen konvergieren, stellt einen niedrigen Gipfel dar, der bei den normalen, gut genährten Tieren gar nicht zu unterscheiden ist, an den verhungerten Tieren jedoch gut wahrnehmbar ist. Dann hebt er sich von dem umgebenden Endoplasma ganz unmerklich empor und liegt dicht unter der Bucht des Kernes.

Außer den langen, dünnen Fibrillen der zweiten Ordnung finden wir noch andere, viel dickere, die ich als Fibrillen der dritten Ordnung bezeichne. Sie verlaufen nicht in einer so verhältnismäßig regelmäßig begrenzten, trichterartigen Fläche, wie der Gesamtapparat der Fibrillen der ersten und zweiten Ordnung, sondern sie ziehen in ziemlich unregelmäßigen Körperhöhen; sie beginnen an den vorderen Basalsäumen, in ihrem Verlaufe sind sie viel mehr wellenartig gebogen, ziehen sehr weit nach hinten und endigen im Endoplasma des Cumulus (Fig. 7). Sie sind viel dicker als die übrigen Fibrillen und ihre Zahl und ihr Vorkommen ist viel spärlicher. —

Es handelt sich nun darum, die Morphologie und Bedeutung aller dieser Fibrillen aufzuklären, die in einer so außergewöhnlichen Anzahl, Länge und Deutlichkeit entwickelt sind und einen so mächtigen Fibrillenapparat zusammensetzen. Durch das direkte Beobachten können wir feststellen, daß bei jungen, d. h. gerade abgetrennten, hinteren Tieren diese Fibrillen bloß auf typische Basalfasern beschränkt sind. Sehr bald aber, allerdings mit großen individuellen Schwankungen, werden diese Fasern viel länger, es entstehen die Fibrillen der zweiten und schließlich die der dritten Ordnung. Die ursprüngliche Grundlage also sind die typischen Basalfasern, aus welchen durch deren Wachstum oder durch die allmähliche Entwicklung einer anderen, wahrscheinlich kontraktilen Substanz, die an diesen ursprünglichen Basalfasern angelagert wird, die Fasern der zweiten und dritten Ordnung entstehen. Was die physiologische Bedeutung der einzelnen Fibrillen-Ordnungen anlangt, so sind sie ohne jeden Zweifel in der ersten Etappe, also dann, wenn es sich um die kurzen, ursprünglichen Basalfasern handelt, einfache Stützelemente, die den energisch arbeitenden Membranulis als eine kräftige Stütze dienen — eine Ansicht, die auch Maier vertritt. In späteren Stadien halte ich jedoch die Fibrillen namentlich in inneren distalen Partien der langen Fibrillen und mit aller Sicherheit die dicken Fibrillen der dritten Ordnung für kontraktile Elemente, für Myonemata. Bei der letzteren Sorte ist das sofort aus ihrem ganzen Habitus ersichtlich. Was die Fasern der zweiten Ordnung betrifft, so werden wir bei der Schilderung ihrer Beziehungen zu der Nahrungsaufnahme Gelegenheit haben, für unsere Annahme Stützen zu finden.

Der Kranz der hinteren Membranulae ist ebenso beschaffen wie der vordere. Die Membranulae sind aber immer kürzer und schwächer als im vorderen Kranze. Auch hier ist die Cuticula verdickt, die Membranulae durchbohren sie und eine jede verbindet sich mit ihrem Basalsaume. Die Basalfasern sind sehr unbedeutend und kaum nachweisbar. Wenn sie entwickelt sind, sind sie sehr kurz, gewöhnlich nach vorn, selten horizontal verlaufend. Sie endigen ganz frei im Endoplasma (Fig. 15).

Bei der Teilung wird zuerst an dem etwas in die Länge gezogenen Tiere ein Kranz angelegt, etwa in der Mitte zwischen dem alten vorderen und hinteren Kranze. Es erscheinen zuerst kurze und durchsichtige, kaum bemerkbare Membranulae, wenn noch von dem neuen hinteren Kranze keine Spur vorhanden ist. Während des Wachstums der Membranulae wird die Cuticula an dieser Stelle dicker, die äußerst kurzen Basalfasern kommen zum Vorschein. Erst

später, wenn der vordere Kranz schon angelegt ist, entsteht auf ähnliche Weise der neue hintere Kranz. Bei der Teilung wird also der alte hintere Kranz zum neuen vorderen, während beide hinteren Kränze neu gebildet sind. Noch bevor das hintere Tier sich abgetrennt hat, können wir verfolgen, wie im neuen Tiere die vorderen Basalfasern mächtiger, länger und deutlicher werden. In ersten Stadien laufen sie noch horizontal durch (Fig. 16), erst später wenden sie sich nach hinten und erreichen allmählich ihre beträchtliche Länge.

Von dem vorderen Kranze der Membranulae hebt sich die Cuticula auf, steigt dann ziemlich steil empor und bildet einen nach vorn sich verengenden Cylinder — den Cytopharynx. Eigentlich ist die distale Partie des Cytopharynx bloß von der Cuticula gebildet, welch letztere hier bedeutend dicker wird. Die Pharynxwand ist ganz glatt, von einer Faltung ist gar keine Rede, und wenn wir Angaben finden, daß diese Längsstreifung existiert, ist sie auf eine Verwechslung mit den Reusenstäbchen zurückzuführen, wie Bütschli und Maier bei ähnlichen Verhältnissen anderer Ciliaten klargelegt haben. Äußerlich geht die Cuticula in die Cytopharynxwand ganz kontinuierlich über. An der inneren Seite kann man aber, namentlich bei älteren Individuen, feststellen, daß dort, wo die Cytopharynxwand senkrecht emporsteigt, sich noch eine kurze Fortsetzung dieser Wand herausbildet, die eine kurze Strecke in das Endoplasma hineinragt (Fig. 33). Es ist das ein rein ektoplasmatisches Gebilde, das durch ein lokales Wachstum der Cuticula in das Innere entstanden ist und beträchtlichen Variationen unterliegt.

An der inneren Seite der ganzen Cytopharynxwand finden wir einen mächtigen Reusenapparat. In seiner Anordnung und Organisation gleicht er dem anderer Ciliaten, z. B. von Prorodon, wie er neulich von Maier beschrieben und abgebildet wurde (seine Taf. III Fig. 2c, 4d, 4e). Einzelne Stäbchen haben die übliche Gestalt; die größte Entfernung voneinander haben sie nicht weit hinter der Mundöffnung. Dann konvergieren sie ein wenig nach vorn, und zwar ziemlich rapid, hinterwärts dagegen ziehen sie erst eine Strecke fast parallel durch und konvergieren erst weiter im Körper allmählich und münden in Nachbarschaft der vom vorderen Wimperkranz nach hinten ziehenden Fibrillen in dem endoplasmatischen Cumulus. Die größte Dicke erreichen die Stäbchen dort, wo sie voneinander am entferntesten sind, sie verengen sich rasch nach vorn, allmählich hinterwärts. In den vorderen Cytopharynx-Partien sind es wenig biegsame, steife und starke Stäbchen. Je weiter nach hinten, desto mehr verengen sie sich, sie werden biegsamer und

gehen schließlich in feine, wellenartig durchlaufende Fibrillen über, die in der Umgebung der Endfibrillen der Basalfasern einmünden. Wie diese letzteren, ziehen auch die Endfibrillen der Reusenstäbchen manchmal sehr weit nach hinten. Ihre Zahl sowie ihre Dicke ist sehr beträchtlichen Variationen unterworfen. Ich habe ihrer 30—80 gezählt. Wenn sie in kleiner Anzahl vorhanden sind, liegen sie einzeln, eine jede von den anderen in gewisser Entfernung, dann sind sie auch dicker. Ein anderes Mal jedoch liegen sie in kleinen Bündeln von 3—5, und solcher Bündel finden wir 15, 18 etc. (Fig. 39, 12). Unwillkürlich habe ich die Vermutung gefaßt, daß einzelne Bündel von dünnen Stäbchen im Laufe der Zeit zu einem dicken Stäbchen verschmelzen. Was ihre Verbindung mit der Cytopharynxwand anlangt, so ist sie eine ähnliche wie bei anderen Ciliaten, wo diese Verhältnisse vor kurzer Zeit von Maier klargelegt worden sind. Die Stäbchen liegen hart an der Cytopharynxwand, aber wachsen mit dieser nicht zusammen. Vergeblich habe ich mich bemüht, herauszufinden, ob die Stäbchen mit ihren distalen vorderen Enden, wo sie verengt sind, mit der Cytopharynxwand in der Gegend der Mundöffnung verwachsen. Immerhin ist aber die Verbindung beider Elemente in dieser Region eine sehr feste. Wenn wir eine Zeit die ungefärbten, in Formol abgetöteten Tiere beobachten, sehen wir, daß die Stäbchen durch das Hervorquellen des Körpers in Unordnung geraten; sie liegen übereinander, aber die Verbindung am vorderen Ende bleibt eine lange Frist erhalten.

Was ihre physiologische Bedeutung anbetrifft, hat sie Balbiani für Trichocysten gehalten, welche ohne Veränderung und in ihrer ganzen Länge auf die Beute (Paramaecium) hervorgeschleudert werden. Bütschli hebt Bedenken gegen diese Deutung hervor: „Mir scheint eine trichocystenartige Funktionierung der Reusenstäbchen unwahrscheinlich.“ Wir werden bald Gelegenheit finden, die Unzulässigkeit der Balbiani'schen Annahme zu beweisen. Bütschli hat die Aufgabe der Stäbchen so gefaßt, „daß das Organ wohl vorzugsweise ein Stützapparat ist, welcher gleichzeitig die Nahrungskörper in das Körperinnere leitet und den Kontraktionen, welche die Eintreibung der Nahrungskörper bewirken, Angriffspunkte bietet“. Diese Erklärung ist ohne Zweifel richtig für die vorderen, steifen und dicken Teile der Reusenstäbchen. Die untere, dünne Fibrille halte ich jedoch für kontraktil und glaube, daß ihr eine Rolle bei der Nahrungsaufnahme zukommt. Eine ähnliche Meinung hat übrigens schon Entz geäußert.

Bei der Teilung werden auch einige Stäbchen quer geteilt und

gehen dann in das neue Tier über. Dieser Umstand ist schon durch die Lage der Stäbchen gegeben und geschieht namentlich bei denen, die außerordentlich lang sind. Einen ähnlichen Fall hat auch SCHEWIAKOFF bei D. balbianii verzeichnet. Bei der Teilung, wenn der Kern parallel mit der Längsachse steht und sein größtes Teilungswachstum erreicht hat, sind die Endfibrillen der Reusenstäbchen auf eine Seite längs des perinukleären Raumes verschoben. Wenn dann allmählich das hintere Tier abgeschnürt wird, können wir gut verfolgen, wie die Cuticula dicker wird und die Cytopharynxwand ausbildet (Fig. 17). Die Mundöffnung des neuen Individuums ist die letzte Stelle, mit welcher es mit dem alten Tiere in Verbindung war. Die aus dem alten Reusenapparat stammenden Stäbchen im neuen Tiere unterscheiden wir recht gut von denen, die neu angelegt werden. Sie sind dicker, tingieren sich stärker und ziehen durch beide Tiere längs des perinukleären Raumes. Dann werden sie drahtartig durchgeschnürt und die hinteren Hälften kommen in das neue Individuum. Die Zahl derartiger Stäbchen ist jedoch eine recht geringe; größtenteils werden die Reusenstäbchen neu gebildet. Diese letzteren sind zuerst schwach und in Unordnung; erst wenn das neue Tier sich abgetrennt hat und frei schwimmt, gelangt das Cytopharynx zur vollständigen Ausbildung und die Stäbchen nehmen ihre definitive Lage ein (vgl. Fig. 16).

An dieser Stelle möchte ich noch eines anderen Systems von Fibrillen gedenken, das jedoch sehr unbedeutend ist und nur in vereinzelten Fällen zum Vorschein kam. Es sind das vereinzelte, dünne Fibrillen, welche längs der äußeren Seite der Cytopharynxwand parallel mit der Längsachse in das Innere hinziehen. Ich betone ausdrücklich, daß ich sie nur in einzelnen wenigen Fällen gesehen habe, und vermag nicht anzugeben, wo sie ihren Ursprung nehmen und wieweit sie nach hinten ziehen. Sie sind viel dünner als die Fibrillen der Membranulae und der Reusenstäbchen. Ihre Ursprungstelle liegt allem Anschein nach in jenem plasmatischen Ring, der den Cytopharynx umgibt und gleich zur Besprechung gelangen soll; über die vermutliche Bedeutung dieser Fibrillen werden wir später einige Worte äußern.

Im vorderen Körperende zwischen der Cytopharynxwand und dem vorderen Wimperkranze bildet sich ein besonderer stützender Ring aus, welcher an den Längsschnitten eine keilförmige Gestalt besitzt, indem seine breitere Seite dem Cytopharynx anliegt und das verengte Ende gegen die Basalsäume des Wimperkranzes hinzieht. Dieser Ring kommt erst bei älteren Individuen zum Vorschein, bei

jungen Exemplaren finden wir keine Spur von ihm. Bei alten Tieren ist er sofort durch seine tiefere Färbung auffallend nnd tritt besonders bei hungernden Tieren mit besonderer Klarheit hervor. An den Schnitten sieht er körnig aus. Es sind das äußerst kleine und dichte Waben des Endoplasmas, nnd man kann sehr leicht seine Entstehung damit erklären, daß das Endoplasma an diesen Stellen kondensiert wird, seine Alveolen kleiner und seine Balken und Waben stärker und dichter werden. Es ist einleuchtend, daß dieser Ring eine Stützvorrichtung für den ganzen vorderen Körperteil des Infusors darstellt; die Ökonomie dieser Einrichtung wird sofort klar werden, wenn wir die Weise, wie die Nahrung anfgenommen wird, schildern werden. Dadurch, daß in diesem Ringe das Plasmanetz kondensiert wird, entstehen Stellen, die ein flüssigeres und helleres Plasma führen, und zwar: Die Partie zwischen diesem Ringe und der Cuticula am vorderen Körperende, dann zwischen dem Ringe und den Basalteilen der Fibrillen, die von den vorderen Basalsänmen sich in das Innere begeben. Namentlich beim Hungern werden diese hellen Stellen besonders deutlich.

Das Lumen des Cytopharynx ist nicht leer. Wir sehen, daß es vollständig von einem plasmatischen Strange erfüllt ist, welcher längs gestreift zu sein scheint. Dieser Strang wird dnrch ein Plasma gebildet, welches ganz fein und hyalin ist und in dem eine Struktur nicht wahrzunehmen ist. Bloß an seiner Basis können wir eine feine Granulation erkennen. Die Streifung ist nichts anderes als feine und dünne Stäbchen — die Trichiten. Diese werden durch das Heidenhain'sche Hämatoxylin nicht gefärbt, bleiben farblos und lichtbrechend. Nach der Mallory'schen Methode wird der ganze Strang bläulich gefärbt, durch welches Verhalten er einerseits von der Umgebung markant abweicht, andererseits auf seine audere physiologische Bedeutnng hinweist. Anch in den Tieren, welche im Innern ein eingezogenes Paramaecium führen, ist dieser Strang durch seine blaue Farbe leicht erkennbar. Am dicksten sind die Trichiten am distalen Ende, dann verengen sie sich und schwinden im Plasma des Stranges. Die distalen Spitzen der Trichiten liegen beim lebenden Tiere dicht am Rande der Mundöffnung. Wenn die Cytopharynxwand bei der Fixation ein wenig zusammenschrumpft, tritt der vordere Teil des Stranges aus der Mundöffnung heraus nnd die Trichiten sind sehr gut wahrnehmbar. Am unteren Ende fließt das Plasma des Stranges mit dem Endoplasma vollständig zusammen, noch sehr lange vor dem Pnnkte, wo die Fibrillen einmünden, so daß von der Begrenzung des Stranges an dieser Stelle, mindestens

nach den Präparaten zu schließen, gar keine Rede sein kann. Der Umstand, daß die Trichiten sich zu den Farbstoffen ganz anders verhalten wie die Reusenstäbchen, bringt den Nachweis, daß diesen Gebilden eine ganz andere physiologische Bedeutung zukommt (vgl. Fig. 12, 22). Noch besser werden wir es bei der Beschreibung der Nahrungsaufnahme erkennen. In morphologischer Hinsicht wird hier allen Tatsachen zufolge gerade das Gegenteil gelten, morphologisch stehen die Trichiten den Reusenstäbchen sehr nahe, was schon Blochmann hervorgehoben hat. —

Bei dem D. balbianii fehlt der mittlere Strang vollständig. Aus der fragmentarischen Beschreibnng und skizzenhaften Abbildung Voigt's kann man mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß beim D. cinctum der mittlere Strang entwickelt ist. Voigt bemerkt, daß sich dieser Teil an seinem distalen Ende intensiver färbt.

Die Bedentung aller dieser bisher beschriebenen Elemente erkennt man am besten bei dem Studium der Art und Weise, wie das Didinium seine Beute jagt. Diese Jagd ist eine der interessantesten Erscheinungen im ganzen Ciliatenreiche und läßt kein Analogon in dieser Gruppe zu. Sie hat bereits die Aufmerksamkeit älterer Forscher erregt.

Es ist schon längst bekannt, daß das Didinium nasutum sich ausschließlich von großen Ciliaten, in erster Reihe von Paramaecium ernährt. Bloß in höchster Not jagt es auch größere Flagellaten, welche manchmal in Kulturen in großer Anzahl erscheinen. Sobald die Nahrung, also die Paramaecien aufhören, hungert das Didinium eine verhältnismäßig sehr kurze Frist und encystiert sich mit großer Geschwindigkeit. Das Didininm nasutum gehört zu den Formen, die sich am leichtesten und nnter allen Bedingungen encystieren, sobald der Nahrungsmangel auftancht. In dieser Hinsicht kann man das Didinium als ein Extrem betrachten. Das diametral entgegengesetzte Extrem stellt das Spirostomum vor, welches sich äußerst selten, vielleicht überhaupt nicht encystiert. Dort ist dieser Mangel durch besondere Ruhezustände des Kerns ersetzt, in welche der Kern fällt, wenn schwere Existenzbedingungen eintreten. Das Nähere hoffe ich bei einer anderen Gelegenheit auseinandersetzen zu können.

Die Art nnd Weise, wie das Didinium die Paramaecien jagt und fängt, hat Balbiani folgenderweise beschrieben: „Sobald das Didinium, das sich dabei im Wasser beständig im Kreise dreht, sich in der Nähe eines Tierchens, das es erbeuten will, z. B. eines Paramaeciums befindet, fängt es an, gegen dasselbe eine Partie der stab-

förmigen Körperchen abzuschießen, welche seine Schlnndbewaffnung bilden. Sogleich hört das Paramaecinm auf zu schwimmen und schlägt das Wasser nur noch schwach mit seinen Wimpern; rings um dasselbe sieht man die Geschosse zerstrent, welche dazu gedient haben, es zu betäuben. Dann kommt sein Feind herbei und läßt rasch aus seinem Munde ein verhältnismäßig langes und einem walzenförmigen, durchscheinenden Stäbchen ähnliches Organ in Form einer Zunge hervortreten, welches er mit seinem verbreiterten freien Ende auf einen Punkt vom Leibe des Paramaecium haftet." Bütschli bemerkt dann: „Bei keiner Ciliate, auch nicht der nächstverwandten, wurde etwas Ähnliches beobachtet; es scheint daher zweifelhaft, wie der Fortsatz zu beurteilen ist. Ich muß sogar gestehen, daß mir die ganze Mitteilung, obgleich sie von einem so geübten nnd erfahrenen Beobachter stammt, etwas unsicher erscheint. Findet ein solches Einfangen der Nahrung wirklich statt, so kann es sich wohl nur um eiu pseudopodienartiges Gebilde handeln, wie schon Allmann [1]) bemerkte." Maupas äußerte die Ansicht, daß der hervorgestülpte Rüssel eine Tänschung und nichts anderes sei, als ein Strom der Sarkode, die ans der mittels der Trichocyten im Paramaeciumkörper vernrsachten Wunde herausströmt. G. Entz glanbte, „daß sich dieses Organ, wenn auch weniger entwickelt, auch bei Mesodinium vorfindet, aber dnrchaus keine vorschießbare innere Zunge ist, sondern nichts anderes als die eben erwähnte, zitzenförmig vorgestülpte Mundumrandung, der Lippenwulst, welcher bei Didinium einer sehr bedeutenden Verlängerung fähig ist". Aus der nachstehenden Beschreibung, welcher eine lange Reihe von Beobachtungen zugrunde liegt, werden wir ersehen, wie die eben angeführten Meinungen der Wahrheit entsprechen.

Das erste, was wir bei der Verfolgung des Didiniummanövers konstatieren können, ist, daß die Abtötung des Paramaecium nicht durch „Trichocysten", sondern durch den mittleren Strang bewirkt wird. Das lebhaft rotierende Didinium tastet mit dem Rande der Mundöffnung an den herumschwimmenden Paramaecien umher. Plötzlich schießt es durch eine energische Kontraktion des Pharynx mit wunderbarer Geschwindigkeit den mittleren Strang hervor, welcher dann aus der Mundöffnung wie ein schlanker, heller Cylinder heransragt und manchmal $^2/_3$ Körperlänge erreicht. Dieser Strang wird nun in den Paramaecinmkörper sehr fest eingebohrt und führt einerseits den plötzlichen Tod des Paramaecium herbei, andererseits

[1]) Recent progress in our Knowledge of the Ciliate Infusoria. Monthly microsc. Journ. Vol. XIV 1875. Die Arbeit blieb mir unzugänglich. Citiert nach Bütschli.

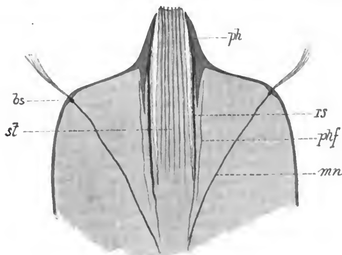
bewirkt er die Verbindung des Paramaecium mit dem Didiniumkörper. Wie an lebenden Tieren, so auch an Präparaten tritt mit großer Klarheit die Tatsache hervor, daß es ein solider plasmatischer Cylinder ist. In seinem Innern sehen wir die feine Längsstreifung, welche schon Balbiani bekannt war — die Trichiten. Die Trichiten sind also vollständig in diesem Cylinder eingeschlossen, in keinem Fall werden sie frei hervorgeschleudert, wie Balbiani und seine Anhänger glauben. Der Cylinder ist eine Waffe, die die Beute fängt und sie ihres Lebens beraubt, und er ist auch das Organ, welches die Beute in das Innere hineinzieht. Das Hervorschießen freier Trichiten findet überhaupt nicht statt. Bütschli sagt darüber: „Im Umkreis des Paramaecinms sind in der Tat zahlreiche trichocystenartige Gebilde zu bemerken, welche aber wahrscheinlicher von dem Opfer als von dem Didinium herzurühren scheinen.“ Tatsächlich trifft dieser Satz das Richtige. An lebenden Tieren und Präparaten sehen wir im Umkreise des hervorgestülpten Stranges in manchen Fällen zahlreiche fadenförmige Elemente. Daß es freigewordene Trichocysten des gefangenen Paramaeciums sind, leuchtet sofort ein, sobald wir diese freien Elemente mit denen vergleichen, die noch am Paramaeciumkörper geblieben sind (Fig. 1). Die Trichiten, wenn sie auch frei hervorgeschossen werden könnten, sind nie so gebogen wie die freigewordenen Trichocysten. Außer dieser direkten Beobachtung können wir noch weitere Beweise anführen, daß die Trichiten nie frei ausgeschossen werden und daß das einzige tötende Organ der mittlere Strang ist. Wenn zuerst die freien Trichiten hervorgeschossen würden und dann nachträglich der Strang ausgestülpt werden sollte, müßte nach einem jeden Hervorschleudern der Trichiten das Paramaecinm tot bleiben; dagegen können wir öfters beobachten, daß das Didinium einen Versuch macht, das Paramaecium zu töten. Der Strang dringt jedoch nicht durch die Paramaecium-Cuticula, und das Paramaecium schwimmt weiter. Sehr wichtig sind die Beobachtungen des Zustandes, wenn die Didinien aus Mangel an Paramaecien gezwungen sind, die Flagellaten zu jagen. Da können wir sehen, daß ein Didinium in kurzer Frist einiger Minuten eine große Zahl von Flagellaten, welche nicht näher bestimmbar ist, einfängt. Blitzschnell wird der Strang hervorgestülpt, mit derselben Geschwindigkeit verschwindet der Flagellat im Innern des Feindes. Wenn zum Abtöten eines jeden Flagellaten eine gewisse Zahl von frei hervorschießbaren Trichiten nötig wäre, müßte ihre Zahl im Didinium eine enorme Summe erreichen, und dem widersprechen die direkten Beobachtungen.

Die Trichiten im Strange sind durchsichtig und biegsam, nicht aber in dem Maße, wie die Myofibrillen oder die Trichocysten des Paramaecium. Ihre distalen, etwas verdickten Enden stecken im Paramaecium und man kann ihre Grenze mit aller Deutlichkeit unterscheiden: ihre Enden liegen in einer Ebene. Eine distale Erweiterung des Stranges, wie es Balbiani zeichnet, existiert nicht. Es taucht die Frage auf, ob die giftige, tötende Wirkung bloß die Trichiten oder das ganze Plasma des Stranges besitzt. Das Verhalten des mittleren Stranges zu verschiedenen Färbemitteln, besonders zu der Mallory'schen Mischung, führt zum folgenden Schluß: Das gesamte Plasma des mittleren Stranges ist in physiologischer Hinsicht anders beschaffen als das übrige Endoplasma, es wirkt auf den Körper anderer Ciliaten ätzend und giftig. Es ist das also ein anders beschaffener und zum Zwecke der Nahrungsaufnahme lokalisierter und differenzierter Teil des Endoplasmas, ein dauerndes Organoid des Didiniumkörpers. Die Trichiten sind Bildungen dieses besonders differenzierten Plasmas, sie dienen in erster Reihe als Waffen, es kann ihnen aber auch eine stützende Funktion zukommen.

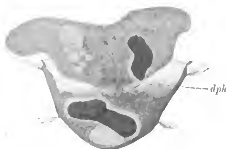
Daß das Plasma des Stranges auf den Körper der Beute ätzend einwirkt, sehen wir wie an lebenden Tieren so auch besonders an den nach Mallory behandelten Präparaten. Sobald dem Paramaecium die Wunde verursacht wird, fangen in der nächsten Umgebung sich zahlreiche Vakuolen zu bilden an, die manchmal eine ansehnliche Größe erreichen, und das Plasma quillt hervor. Nach der Mallory-schen Färbung weicht diese Stelle sehr auffallend von dem übrigen Körper ab und gewinnt eine auffallende violette Farbe (Fig. 4). Wenn dann das Paramaecium eingezogen wird, wird diese verwundete Stelle von dem mittleren Strange mehr oder weniger ausgezogen. Das Plasma ist an dieser Stelle dann fast homogen, und das ganze Verhalten erinnert an die Erscheinungen, denen wir bei der Wirkung starker elektrischer Ströme an der Anode begegnen (Ludlow).

Jetzt wird das Paramaecium in das Cytopharynxlumen eingezogen. Dieser Prozeß geschieht mit außerordentlicher Geschwindigkeit. In seiner ersten Phase wird der mittlere Strang eingezogen, dabei sind die Mundöffnung und der Cytopharynx noch eng geblieben. Sobald aber das Paramaecium — welches in allen möglichen Lagen eingezogen werden kann — den Rand der Mundöffnung berührt, erweitert sich diese und zwar in dem Maße, bis das Paramaecium hineingeht. Bis zu welcher Grenze das geschehen kann, zeigt die Textfig. II und Fig. 5. Dann kann man folgendes feststellen: Die Mundöffnung ist bis zur äußersten Grenze erweitert, die Cytopharynxwand bildet

die äußerste Grenze. Der Paramaeciumkörper gerät in unmittelbaren Kontakt mit dem Didiniumendoplasma. In seiner Mitte zieht der verkürzte und verdickte, durch die blaue Farbe nach Mallory sich gut abhebende Strang. Dabei sind die Reusenstäbchen, namentlich wenn das Paramaecium in querer Lage eingezogen wird, auf die



Textfig. I.*)



Textfig. II.

Seiten verschoben (Fig. 2, 5). Sie kehren jedoch sofort in ihre ursprüngliche Lage wieder, sobald das Paramaecium den Cytopharynx passiert hat (Fig. 3). Den mittleren Strang können wir lange verfolgen. Beim Einziehen kommt er an die Seite zu liegen und wird

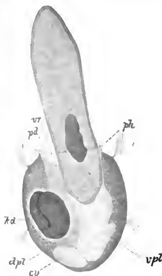
*) Buchstabenerklärung cf. S. 318.

manchmal vollständig umgekehrt (Fig. 5, 10). Dabei bleibt er verhältnismäßig lange Zeit in Verbindung mit dem Körper der Beute. Er wird erst frei gemacht, wenn das Paramaecium größtenteils schon verdaut ist, und kehrt dann in seine ursprüngliche Lage im Cytopharynxlumen wieder zurück. Der ganze Prozeß von dem Einfangen der Beute bis zu diesem Moment dauert 2—3 Minuten. Man kann leicht beobachten, daß die Didinien, bei welchen das Paramaecium noch nicht verdaut ist und der mittlere Strang noch nicht seine alte Stelle einnimmt, keine Nahrung berühren. Dasselbe ist bei jungen Tieren der Fall, wo der Strang noch nicht entwickelt ist. In sehr seltenen Fällen trennt er sich von dem eingezogenen Paramaecium sehr bald und kann dann ein zweites Tier fangen. Daß das Didinium, welches ein Paramaecium in seinem Innern führt, die verschiedenartigsten Gestalten, je nach dem in welcher Lage das Opfer verschluckt wurde, annimmt, ist selbstverständlich. Das gesamte Endoplasma ist dabei auf ein Minimum zusammengedrückt und umgibt sackartig die Beute. Der Kern mit seinem perinuklearen Raume ist dann an die Körperwand verschoben. Es kommt hier und da vor, daß zwei Didinien ein Paramaecium an zwei gegenüberliegenden Stellen zugleich angreifen. Beim Einziehen der Beute kommen beide Individuen sehr nahe aneinander; solche Fälle täuschen dann die Konjugation vor, wo auch die erste Verbindung durch das Aneinanderlegen der Mundöffnungen in etwas schräger Richtung stattfindet.

Es handelt sich nun darum, festzustellen, in welchen Beziehungen die einzelnen Elemente des Wimperapparates und des Cytopharynx beim Einfangen der Nahrung zueinander stehen. Davon habe ich folgende Vorstellung gewonnen: Der mittlere Strang wird durch Kontraktion des ganzen Pharynx hervorgestülpt. Die Hauptrolle kommt hier wahrscheinlich den Endfibrillen der Reusenstäbchen zu. Daß der Cytopharynx dabei kontrahiert ist, können wir wie an lebenden Tieren so auch an Präparaten leicht feststellen; er ist verkürzt und breiter. Die Reusenstäbchen sind aneinander gehäuft, verlaufen nicht so regelmäßig und ihre Endfibrillen sind nicht wahrzunehmen. — Das erste Einziehen des mittleren Stranges bis zum Rande der Mundöffnung findet durch Reaktion des namentlich an der Basis des Stranges liegenden Plasmas an die vorgehende Kontraktion statt. Vielleicht wirken jene feinen, hier und da an der äußeren Cytopharynxwand verlaufende Fibrillen hier als Antagonisten. Jetzt wird die Beute energisch in den Pharynx eingezogen. Das Breitwerden der Mundöffnung geschieht rein mechanisch; ihre Ränder folgen bloß dem Umfang der eingezogenen Beute nach. Die Haupt-

rolle spielen hier ohne Zweifel die zahlreichen Fibrillen der zweiten und dritten Ordnung, welche von dem vorderen Kranze der Membranulae sich zu dem mittleren Cumulus begeben. Sie bewirken durch ihre Kontraktion das vollständige Einziehen des mittleren Stranges und der Beute. Sobald ein größerer Teil des Paramaeciums in das Cytopharynxlumen gelangt ist, üben die Cytopharynxwand und die oberen steifen Teile der Reusenstäbchen auch auf den Paramaeciumkörper von allen Seiten einen heftigen Druck aus, das Paramaecium rutscht in das Innere des Didiniums hinein und der Reusenapparat wird rekonstruiert (Fig. 3). Dann kehrt auch der mittlere Strang, sobald er von der Beute los wird, in seine ursprüngliche Lage. — Das Schema (Textfig. I S. 297) soll die ganze Organisation des Fangapparates veranschaulichen.

Aus der ganzen Beschreibung des Sarcs von Didinium nasutum ergibt sich eine bewunderungswürdige Höhe der cytologischen Differenzierungen. Die seitliche phylogenetische Entwicklung der Didinien liefert hierfür die Grundlage. Jener mittlere Strang mit seinen Myonemensystemen ist ein Organoid sui generis, welches kein Analogon im Ciliatenreiche hat.



Textfig. III.

Wir kommen nun zur Besprechung der bekannten Balbiani'schen Angabe, daß das Didinium einen dauernden Darm besitze, welcher vom Mund zum After hinzieht. Balbiani hat beobachtet, daß vor dem Paramaecium, welches in den Didiniumkörper gelangt, ein heller, dreieckiger Raum entsteht. Eine ähnliche Erscheinung hat er auch mit der Jodtinktur hervorgerufen. Diese Anschauungen, sowie die Meinung Maupas' werden in ausführlicher Weise von Bütschli erörtert. Bütschli kommt zu dem Schlusse: „Das Auftreten des hellen dreieckigen Spalts vor der eingeführten Nahrung erklärt sich aber ebenso leicht durch einfaches Auseinanderweichen des Plasmas bei gleichzeitigem Eindringen einer gewissen Quantität Wasser, also durch die Bildung einer Art Nahrungsvakuole vor der eindringenden Nahrung.“ Diese Erklärung trifft vollständig das Richtige. Übrigens ist es ein ganz ähnlicher Fall, wie bei

Leucophrys patula Ehrb., bei welcher auch Ehrenberg eine Darmröhre sehen wollte und welch letztere nach Ausführungen Stein's nichts anderes als eine große Nahrungsvakuole ist.

Daß beim Didinium der helle Raum die Nahrungsvakuole darstellt, ist sofort ersichtlich. Das Endoplasma wird, sobald es mit der Beute in Kontakt kommt, heller, schließlich ganz hell und homogen; die Gestalt, Größe und Lage des hellen Raumes ist sehr labil. Er wälzt sich von Stelle zu Stelle je nach dem, wie die Beute durch die Strömung und Kontraktion des Plasmas verschoben wird. Manchmal kommt er überhaupt nicht zum Vorschein, manchmal erreicht er eine kolossale Größe (s. Textfig. III S. 299). Daß diese große Nahrungsvakuole durch das Eindringen von einem Quantum Wasser zustande kommt, ist ziemlich selbstverständlich. An den Präparaten sehen wir öfters die Übergänge des Endoplasmas in den hellen Raum. Wir finden auch besonders an Schnitten eine augenscheinlich ganz leere Stelle in der Umgebung des Paramaeciums. Diese halte ich auch für eine Lücke, entstanden durch eingedrungenes Wasser. Aus allen diesen Punkten ist ersichtlich, daß von einem dauernden Darm beim Didinium gar keine Spur zu finden ist. Auch die Angabe Balbiani's ist ganz falsch, daß die Beute bloß in der mittleren Längsachse des Körpers verweilen soll. Dem widersprechen unzählbare Beobachtungen. Manchmal ist der helle Raum so groß, daß er bis zum hinteren Ende des Didiniumkörpers zieht, aber immer bleibt eine Schicht des Endoplasmas zwischen der Cuticula und Nahrungsvakuole erhalten. Voigt nimmt beim Did. cinctum ebenfalls „einen dauernden Raum" im Körper an. Beim ersten Anblick seiner Beschreibung und Abbildung ist sofort zu erkennen, daß er den großen perinukleären Raum vor sich hatte.

Es bleibt uns noch übrig, mit einigen Worten der Erscheinungen zu gedenken, die sich am Sarc, besonders aber am Fangapparat, beim Hunger und bei der Encystierung abspielen. Diese Inanitionserscheinungen zeigen eine große Ähnlichkeit mit denen, welche Wallengren beim Paramaecium vorgefunden hat. Wir können hier ähnlich wie Wallengren zwei Perioden auseinander halten: Die Haupterscheinung der ersten Periode ist das Verdauen der Einschlüsse und Kondensation des Plasmas, in der zweiten wird das Plasma vakuolisiert und die Tiere encystieren sich. Beide Perioden sind mit Veränderungen der Körpergestalt, besonders des Pharynx, verbunden. Wenn wir die Tiere hungern lassen, stellen sich die Veränderungen außerordentlich bald ein. In der ersten Etappe wird die gesamte Nahrung verdaut; fast sämtliche Einschlüsse, in erster

Reihe die größeren, verschwinden. Im ganzen ist aber die Resorption dieser Einschlüsse, die sich größtenteils nach der Heidenhain'schen Färbung tief tingieren, sehr zahlreichen Schwankungen unterworfen. Es ist von Interesse, daß einige kleinere von diesen Einschlüssen sehr lange erhalten bleiben, noch dann, wenn das Endoplasma der Vakuolisation vollständig verfallen ist, ja sogar noch in den ersten Stadien der ausgebildeten Cysten. Manche von ihnen verlieren im Laufe des Hungerns die Fähigkeit, sich mit Eisenhämatoxylin zu färben, werden blasser und mehr lichtbrechend und verschwinden schließlich. Bei der größeren Anzahl der Tiere wird jedoch das Cytosarc schon in den ersten Etappen des Hungerns vollständig leer. Die erste natürliche Folge des Hungerns ist, daß das Endoplasma sich kontrahiert und kondensiert wird, das Körpervolnm wird kleiner. Infolgedessen wird auch das System der adoralen Fibrillen kontrahiert und der plasmatische Cumulus samt dem Kern kommt viel höher, in die Nähe des Cytopharynx zu liegen. In dieser Epoche ist diese Lage des Kerns auffallend und allgemein geltend. Infolge der Kondensation des Endoplasmas kondensiert sich auch jener stützende, von dichten Waben gebildete Ring zwischen dem Cytopharynx und dem vorderen Wimperkranze. Er wird sehr markant, und da die Cuticula noch ihre ursprüngliche Form behält, entsteht ein scheinbar leerer Raum zwischen diesem Ringe nnd dem vorderen Körperende. Auch an der unteren Seite des Ringes entsteht ein ähnlicher heller Ranm. An dem äußeren Teile des Cytopharynx können wir anch Veränderungen wahrnehmen. Seine distalste Partie mit der Mundöffnung wird etwas enger und sitzt auf dem Basalteile wie anf einem Sockel (Fig. 6). Das Fibrillensystem ist noch intakt. Das Zusammenschrumpfen des Plasmas geht aber weiter und der Körper wird kleiner. Da aber an den Stellen, wo die beiden Kränze der Membranulae liegen, ihre Basalfasern ihnen eine feste Stütze leisten, wird hier die Cuticnla nicht kontrahiert, der Körper bekommt daher eine fäßchenartige Gestalt. Dabei wird der hintere, abgerundete Körperrand flacher und schließlich gerade; er enthält die pulsierende Vakuole, welche im Laufe des Hungerns sehr beträchtlich an Größe zunimmt. Es ist eine auffallende Erscheinung, daß sich die pulsierende Vakuole während des Hungers vergrößert. Namentlich beim Spirostomum ambiguum habe ich auf diese Weise eine kolossale Größe der Vakuole erzielt. Dieser Umstand dürfte so zu erklären sein: Infolge des Hungerns wird die Lebensenergie des Endoplasmas verkleinert, die Exkretstoffe sammeln sich immer und immer in der Vaknole, diese aber ist infolge der Inanition nicht imstande, so oft

zu pulsieren, wie während der normalen Verhältnisse. Zu dieser Zeit machen fast alle Individuen die Teilung durch.

Dann tritt die zweite Inanitionsperiode ein, die Vakuolisation des Endoplasmas, welche mit der Encystierung ihr Ende nimmt. Der Körper wird noch ein wenig, aber unbedeutend kleiner und rundet sich allmählich ab. In einigen Fällen schnürt sich das hintere Ende mit der Vakuole ab und sitzt wie ein Höcker an dem übrigen Körper (ähnliches habe ich auch beim Spirostomum gesehen). Der distale Teil des Pharynx wird fast vollständig abgeschnürt, rundet sich ab und sitzt wie ein sekundäres, kugelartiges Gebildes am Didiniumkörper (Fig. 8). Da hierbei die Wände des Cytopharynx ein wenig zusammenschrumpfen, ragt der mittlere Strang ein wenig über die Mundumrandung heraus. Hier und da ist die Cytopharynxkontraktion so heftig, daß der mittlere Strang wie ein Pseudopodium herausgedrückt wird; dann rundet sich sein distales Ende ab, quillt hervor und zerfließt schließlich. Auf diese Weise verlassen dann auch die Trichiten das Plasma und zerfließen. In den meisten Fällen aber werden sie im Körper resorbiert, ein Prozeß, der mit der Resorption des ganzen Fibrillenapparates verbunden ist.

Im Endoplasma werden Vakuolen gebildet. An totalen Präparaten (Boraxkarmin) sehen wir hier und da hellere Stellen, die aus kleinen Vakuolen bestehen. Die Vakuolen treten allmählich in größerer Anzahl auf und erfüllen schließlich den ganzen Körper. Immerhin aber sind diese Vakuolen relativ klein, nie sah ich so große, destruierende Vakuolen, wie beim Paramaecium oder Spirostomum. Einzelne Vakuolen sind dann durch Reste des Plasmas voneinander getrennt, dessen Struktur aber aufgerissen und größtenteils zerstört erscheint. Der Fibrillenapparat wird resorbiert. Der plasmatische Cumulus, wenn er noch existiert, wird in eine beträchtliche Körperhöhe verschoben. Die Fibrillen, welche zu ihm von dem vorderen Wimperkranze zuströmen, werden gebogen, dann zerrissen und schließlich resorbiert (Fig. 8). Den Reusenstäbchen wird ein ähnliches Schicksal zuteil. Zuerst bekommen sie einen wellenartigen Verlauf, dann werden sie durchgerissen. Dabei gesellen sich einige zu kleinen Gruppen. Wenn ihre Endfibrillen dem Zerfließen anheimfallen, gelangen ihre vorderen dickeren Teile in jene äußere, abgeschnürte Partie des Cytopharynx, wo sie dann miteinander verschmelzen und endlich in kurze Stäbchen und Kugeln zerfallen (Fig. 32). Bei der Encystierung wird regelmäßig allmählich der vordere Cytopharynxteil vollständig in das Innere eingezogen. In einigen seltenen Fällen wurden vorher die Reusenstäbchen resorbiert.

aber die Cytopharynxwand blieb noch lange erhalten. In ihrer Basis konnte man die Reste des mittleren Stranges erblicken. Diese Variationen kann man auf die verschiedene Art und Weise zurückführen, durch welche die vorhergehende Konzentration und Destruktion des Plasmas zustande kam.

Der Kern.

Ruhender Kern.

Der Kern des Didininm nasutum ist relativ sehr groß. Er hat eine schöne, hufeisenförmige Gestalt, im Querschnitte ist er kreisrund. Bei normalen Tieren liegt er horizontal im hinteren Körperdrittel. Gewöhnlich ist er von einem großen, hellen, aus einem hyalinen Plasma gebildeten perinukleären Hofe umgeben, der besonders bei hungernden Tieren in seinen Dimensionen zunimmt und sehr markant wird. Der Kern ist mit einer festen und dicken Membran umhüllt. Er hat überhaupt eine sehr feste Konsistenz, wofür die Ursache in Anordnung und Menge einzelner inneren Struktnren zu suchen ist. Infolgedessen verhält sich der Kern bei verschiedenen Veränderungen der Lebensbedingungen sehr konservativ, er ist nicht imstande. auf die veränderten Verhältnisse der Existenzbedingungen in dem Maße zu reagieren, wie z. B. Kerne von Paramaecium oder Spirostomum. Die Volumunterschiede des Kernes bei verschiedenen Verhältnissen sind sehr unbedeutend. — Die Kernmembran ist sehr dick, elastisch, deutlich doppelkonturiert, ganz homogen, ohne irgendwelche Strukturen. Von ihrer Konsistenz überzeugen wir uns wie an Schnitten, so besonders an isolierten, mit Hämatoxylin gefärbten und dnrch leichten Druck etwas geöffneten Kernen. Da tritt ihre Stärke deutlich hervor, sie schließt die inneren Strukturen vollständig ein, ist schwer durchdringlich und läßt daher die Farbstoffe nur schwer durch. Daraus erklärt es sich, daß der Kern bei veränderten Lebensbedingungen in den meisten Fällen seine Gestalt behält. Auch bei der Teilung und besonders bei hungernden Kernen wird die Kernmembran besonders deutlich. Daß sie ein Plasmaprodukt sein sollte, wie von einigen Seiten angegeben wurde, ist, wie ich denke, ganz unannehmbar, und das Verhalten der Membran und ihre Beziehungen zu den inneren Kernstrukturen und dem perinukleären Raume, dann ihr Verhalten bei der Teilung läßt nicht einen Augenblick daran zweifeln, daß sie ein Kernbestandteil ist; ihre Ähnlichkeit mit der Pelicula ist nur scheinbar.

Im Kerne unterscheide ich im Einklange mit v. Erlanger, R. Hertwig u. a. ein achromatisches, aus Linin gebildetes Wabenwerk, „welches die Alveolenwände bildet, während das Innere der Kämmerchen Kernsaft enthält". In diesem Wabenwerk sind Chromatin und Plastin (Nukleolarsubstanz) eingelagert. Die einzige chromatische Substanz ist das Chromatin, das Plastin (die Nukleolarsubstanz) ist achromatisch und nicht, wie Lubosch meint: „Das ursprüngliche Kerngerüst besitzt eine achromatische Grundlage. Diese ist nicht gleichbedeutend mit dem Plastin- oder Liningerüst, sondern enthält dieses, überkleidet von einer besonderen chromatischen Substanz, der sog. Nukleolarsubstanz. Diesem solchergestalt aus zwei Substanzen bestehenden achromatischen Gerüst ist die Nukleinsubstanz angelagert."

Bezüglich der Auffassung der Nukleolarsubstanz oder des Plastins stehe ich vollständig auf dem Boden der Anschauungen von R. Hertwig. Es ist das eine achromatische Substanz im Kern, welche in der größten Anzahl von Fällen und Erscheinungen in einem beständigen, unmittelbaren, hier engeren, ein anderes Mal in einem weniger festen Kontakte mit dem Chromatin sich befindet. Infolgedessen, daß ihre Verbindung und ihr relatives Quantum außerordentlich variabel ist und auch ihr morphologisches Verhalten zahlreichen Schwankungen unterworfen ist, sind die verschiedenen Formen von Nukleolen leicht erklärlich. R. Hertwig hat diese Verhältnisse sehr ausführlich und gründlich auseinandergesetzt, und wir haben sie bei einer anderen Gelegenheit erörtert. Daraus folgt weiter, daß es gänzlich überflüssig ist, verschiedene Modifikationen des Chromatins im Kern in bezug auf ihr färberisches Vermögen anzunehmen, wie z. B. Lanthanin, Basi- und Oxychromatin etc., wie es von manchen Autoren in verschiedener Weise versucht worden ist (Heidenhain, Korschelt, Reincke usw.). Diese sämtlichen Elemente werden in einer viel natürlicheren Art und Weise erklärt, wenn wir sie auf verschiedene Quanta des Chromatins und Plastins in ihren einzelnen Kombinationen zurückführen. Die Nukleolarsubstanz liefert die Grundlage für das Chromatin, sie organisiert dasselbe. Aus nachstehenden Beobachtungen wird auch die weitere Bedeutung derselben einleuchten. Auf die Frage, ob sie ein permanentes Attribut des Kernes sei, oder erst sekundär ausgeschieden werde, wird aus den nachstehenden Mitteilungen die Antwort entfallen, daß sie dauernd im Kern anwesend ist. Für vollständig widerlegt halte ich die Vermutung, daß die Nuklearsubstanz bloß ein Produkt des Stoffwechsels wäre, daß sie Reservestoffe vorstelle, die verbraucht werden. Ihre morphologische Gestalt, sowie ihre

Menge im Kern, ebenso ihre physiologischen Eigenschaften sind zahlreichsten Schwankungen und Verschiedenheiten während der verschiedenen Existenzbedingungen unterworfen, wir werden aber aus den folgenden Beobachtungen ersehen — übrigens folgt es schon aus den glänzenden Untersuchungen R. Hertwig's über Actinosphaerium —, daß diese Substanz für das Leben der Zelle von derselben Wichtigkeit ist, wie das Chromatin, ja noch wichtiger, da sie das Chromatin organisiert und in unserem Falle die Teilung herbeiführt.

Die Schnitte durch einen normal ernährten Didiniumkern von normalem Alter liefern folgendes Bild: Wir haben eine anscheinend gleichmäßig homogene Substanz, der eine Unzahl von winzig kleinen Körnern anliegt, von denen die meisten sich an den Grenzen der Beobachtungsmöglichkeit befinden. Außer diesen winzig kleinen Körnern liegen in der Grundsubstanz sehr zahlreiche kreisrunde Nukleolen von sehr verschiedenartiger Größe. Von den kleinsten Körnern bis zu den größten Nukleolen finden wir alle möglichen Übergänge. Gewöhnlich sind diese Nukleolen von einem engen perinukleolären Höfchen umgeben. Das Ganze mit Ausnahme dieser Nukleolen macht also den Eindruck einer körnigen Masse, die auch in anderen Ciliatenkernen vorkommt und ältere Autoren zu der Ansicht geführt hat, daß diese granulöse Struktur für die Ciliatenkerne charakteristisch ist. Das Lininnetz ist sehr feinmaschig und von den sehr zahlreichen, größtenteils winzig kleinen Nukleinkörnern fast vollständig verdeckt.[1]) Nach der Heidenhain'schen Methode tingiert sich diese Masse ziemlich dunkel; es tritt deutlich hervor, daß sie aus unzählbaren chromatischen Körnchen zusammengesetzt ist. Auch die größeren typischen Nukleolen werden schwarz gefärbt, sie enthalten also unter normalen Verhältnissen ein größeres Quantum vom Chromatin, welches die Plastingrundlage vollständig verdeckt. Nach der Mallory'schen Färbung ist die Grundsubstanz (Linin + Karyochylema) violett oder rosa gefärbt, während die typischen Nukleolen und die kleinen Körnchen sich gelb, orange oder rot färben. Aus Kombination dieser zwei Methoden und aus allen festgestellten Tatsachen schließe ich, daß auch den kleinsten Chromatinkörnern ein wenn auch minimales Quantum der Nukleolarsubstanz beigemischt ist, daß also in diesem Falle keine Unterschiede zwischen

[1]) An den beigegebenen Bildern habe ich die feinmaschige, von Chromatinkörnern verdeckte Lininstruktur nicht eingezeichnet und bloß in einem der Farbe des Präparates entsprechenden Grundton dargestellt.

den großen Nukleolen und den kleinen Körnern bestehen, und daß die ersteren bloß größere Ansammlungen beider Substanzen sind. Im Kern, welcher sich in der intensivsten Lebenstätigkeit befindet, ist die Verteilung des Plastins und Chromatins so gleichmäßig wie möglich, darum finden wir eine große Menge kleiner, fast gleich großer Nukleolen.

Die Zahl und Größe der Nukleolen ist äußerst variabel. Bei manchen Tieren, und zwar solchen, die allen Beobachtungen zufolge alt sind, können wir beobachten, daß in jedem Arme des hufeisenförmigen Kernes ein oder mehrere außerordentlich große Nukleolen sich gebildet haben. Wir können uns leicht überzeugen, daß diese großen Nukleolen durch Zusammenfließen von kleineren zustande kommen (Fig. 47).[1] Auf diese Weise verschmilzt endlich die ganze Nukleolarsubstanz mit dem ihr eingelagerten Chromatin in einige wenige, riesig große Körper, typische Binnenkörper (Fig. 48). Auch diese können schließlich in eine einzige große Masse zusammenfließen (Fig. 49). Über die physiologische Bedeutung dieses Prozesses werden wir später sprechen. Jetzt interessiert uns in erster Reihe die Frage, wie diese großen Binnenkörper strukturiert sind. Das können wir am besten an solchen Binnenkörpern enträtseln, in denen das Chromatin wahrscheinlich infolge des Hungers verbraucht wurde und bloß die aus Nukleolarsubstanz gebildete Grundlage zurückgeblieben ist. Dann sehen wir, daß die Struktur dieser chromatinfreien Grundlage grob alveolär ist. Größtenteils sind die Alveolen im Vergleich mit denen des Liningerüstes ziemlich groß und auch einzelne Balken des Gerüstes von beträchtlicher Breite. Einige Stellen in diesem Gerüstwerke sind noch solid, strukturlos. Diese zeigen deutlich die Grenzen der ehemaligen einzelnen Nukleolen, welche sich an der Bildung des großen Binnenkörpers beteiligt hatten. Es ist leicht ersichtlich, daß diese grob alveoläre Struktur der großen Binnenkörper, die bei gefütterten Tieren vollständig von dem eingelagerten Chromatin verdeckt ist, erst sekundär entsteht. Ursprünglich sind es kleine Tropfen, kleine Granula der Nukleolarsubstanz, welche verschmelzen und erst nachträglich sich zu Alveolen umbilden; an Stelle der einzelnen soliden Nukleolen entsteht ein strukturiertes Gebilde mit breiten und dicken Waben. Vom physikalischen Standpunkte aus ist es ein ähnlicher Prozeß wie der, welchen Vejdovský und Mrázek in den Eiern von Rhynchelmis

[1] Vgl. auch meine Mitteilung über die Exkretionsorgane der Hydrachnidenfamilie Limnocharidae.

beschrieben und abgebildet haben, wo aus den Mikrosomen sich auch Alveolen bilden.

In unserem Falle liegen die kleinen, sowie die größeren Nukleolen vollständig frei und sind von einem engen oder breiteren Höfchen des Kernsaftes umgeben. Diese Höfchen sind auch an lebenden Tieren sichtbar, es kann sich hier also um keine Artefakte handeln. Übrigens kommt diese Erscheinung auch in den Metazoenzellen öfters vor. Aber auch bei den Protozoen, wo die Binnenhöcker mit dem Lininnetze durch Fäden verbunden sind, wird es sich nach meinem Dafürhalten um homologe Gebilde mit unseren Nukleolen handeln.

Wir müssen noch mit kurzen Worten die Bildung von Vakuolen in den Nukleolen erwähnen. Wir finden öfters, daß mancher Nukleolus eine oder mehrere kleine Vakuolen enthält, die stark lichtbrechend sind. Ob es Exkrete sind, will ich dahingestellt lassen. Hier und da erblicken wir in der Plastingrundlage der Nukleolen größere lichtbrechende Stellen, so daß die Nukleolen dann ganz blaß sind und eine dunklere, anscheinend aus einer anderen Substanz gebildete Umrandung haben (nach der Mallory'schen Färbung). Dieses kommt vor bei Kernen, die schon degenerieren und hungern, wenn das Chromatin aus den Nukleolen verzehrt wird, so daß man demnach diese Erscheinung auf Degenerationsprozesse zurückführen kann, bei denen das Innere der Nukleolen einer Destruktion verfällt. Das Ganze führe ich deswegen an, weil Rhumbler ähnliche Gebilde gesehen, aber ganz anders ausgelegt hat. Rhumbler befaßte sich ausführlich mit der Frage der Binnenkörper und hat richtig angegeben, daß die größeren Binnenkörper durch das Zusammenfließen der kleineren entstehen und daß die Substanz dieser Binnenkörper bestimmte Beziehungen zum Chromatin besitzt. Jenes verschiedene Lichtbrechungsvermögen der peripheren Schicht und des Centrums einiger Binnenkörper erklärt er durch verschiedenes Alter beider Schichten. Die Deutung der Grundsubstanz aber, welche die Binnenkörper bildet, ist ganz verfehlt: Nach Rhumbler „stellen die Binnenkörper Reservestoffe dar, die ebenso wie die Dotterplättchen des Eies bei dessen Wachstum, bei der weiteren Ausbildung des Kernes verbraucht werden". Daß diese Deutung vollständig irrig ist, erkennt man bei der Teilung des Kernes, dann aus dem Umstande, daß beim Hungern die Nukleolen am längsten widerstehen, wenn das Chromatin schon gänzlich verzehrt ist. Der Verfasser schlägt dann eine ganze physikalische Theorie vom Ursprung, Zusammenfließen und Auflösen der Binnenkörper vor. Hier führe ich bloß folgende Thesen an: „Was die Frage, ob auch chemisch verschiedene Stoffe zusammen-

treten können, anlangt, so muß sie ohne weiteres bejaht werden. Die ganzen Vereinigungsvorgänge sind nach der seitherigen Auffassung rein mechanische Erscheinungen, bei denen die chemische Zusammensetzung der sich vereinigenden Stoffe keinerlei Rolle spielt." Was ihre Herkunft anbetrifft, so nimmt Rhumbler an, daß sie erst in gegebenem Milieu abgeschieden werden: „Man kann sich die Vorgänge durch die Anwesenheit zweier Substanzen im Kernsafte, erstens einer Substanz, welche die Binnenkörper löst, und zweitens einer solchen, welche sie erstarren macht, recht gut erklären." Die Annahme der klaren und einfachen Deutnng der Nukleolarsubstanz, wie sie R. Hertwig lieferte und wie ich sie oben berührt habe, bedeutet den Zusammenbruch aller dieser künstlichen Kombinationen. Übrigens kommen wir zu dieser Frage noch bei der Teilung des Kernes und bei den Inanitionserscheinungen zurück.

Teilung des Kernes.

Es ist mir kein anderes Infusor bekannt, wo sich die Veränderungen der Kernstrukturen bei der Teilung so gut verfolgen ließen, wie bei Didininm. Die erste Erscheinung, die den Anfang der Teilung signalisiert, ist das Zusammenfließen und Verschmelzen der Nukleolen. Dies kommt auf zweierlei Art zustande. Entweder verschmelzen zwei oder mehrere nebeneinander liegende Nukleolen direkt (Fig. 45), oder die Verbindnngsbalken entstehen so, daß sich die Mikrosomen miteinander verbinden und so eine Brücke herstellen, welche die größeren Nukleolen verbindet. Besonders an den Eisenhämatoxylinpräparaten kann man diesen Prozeß klar beobachten (Fig. 24), aber auch an den Mallory'schen Präparaten ist er gut wahrnehmbar (Fig. 38). In letzter Instanz sind beide dieser Modi der Verschmelzung der Nukleolarsubstanz identisch. Auf diese Weise wird die sämtliche Nukleolarsubstanz mit dem ihr angelagerten Chromatin in ein einheitliches Netz vereinigt, welches den ganzen Kernraum erfüllt. Einzelne größere Nukleolen sind noch eine gewisse Zeit sehr deutlich erhalten (Fig. 25, 38). Namentlich in Knoten des Netzes sind sie noch lange Zeit gut bemerkbar; auch die Balken der Netze sind znerst grobkörnig. Es ist interessant, wie sich das Aussehen des Nukleolarnetzes nach den physiologischen Dispositionen des Kernes ändert. Bei Tieren, die gut genährt nnd groß waren, wo wir eine sehr große Anzahl von kleinen Nukleolen trafen, ist auch das Nukleolarnetz sehr nett und zierlich, aus sehr dünnen Balken gebildet (Fig. 19); einzelne Nukleolen paradieren

hier als kleine, kreisrunde Körner. Bei älteren Kernen aber, wo die Nukleolen größer und in geringerer Anzahl vorhanden waren, ist auch das Netz gröber und die Balken breiter und dicker (Fig. 18, 26, 27). In solchen Kernen können wir das Zusammenfließen der Nukleolarsubstanz mit dem sie deckenden Chromatin sehr gut verfolgen. Zuerst bleiben die Nukleolen groß, die Verbindungsbrücken sind sehr dünn (Fig. 25). Dann kommt die weitere Konzentration, einzelne Balken des Netzes sind breiter und grobkörnig (Fig. 26.) Später aber gleichen sich diese Unregelmäßigkeiten der Konturen aus und einzelne Stränge des Netzes sind ziemlich glatt (Fig. 27, 40, 46). Bloß an den Knotenpunkten bleiben die Nukleolen noch eine Zeit erhalten, schließlich aber werden auch diese in die ganze Masse des Netzes eingezogen (Fig. 46).

Daß Nukleolarsubstanz und Chromatin in verschiedenen Kernen in verschiedener Menge anwesend sind, ist selbstverständlich. Infolgedessen wird das Netz in einigen Kernen dicht (Fig. 18), in anderen wieder besteht es aus wenigen Balken und großen Maschen (Fig. 40, 51). Nach der Mallory'schen Färbung tritt das Netz sehr markant hervor. In seinem Innern kann man keine Strukturen entdecken. Es scheint, daß die Nukleolarsubstanz hier eine einheitliche, zähflüssige, strukturlose Masse ist. ,Hier und da werden Vakuolen gebildet (Fig. 45, 46), anderswo treffen wir hellere Stellen, namentlich bei alten oder hungernden Tieren. Nach der Eisenhämatoxylinfärbung ist das Netz gleichmäßig schwarz. Über das Linin kann ich nicht viel aussagen, da seine winzig feine Struktur sich der näheren Beobachtung entzieht. Allen Beobachtungen zufolge halte ich dafür, daß dem Linin bei der Ausbildung des Netzes keine bedeutende Aufgabe zukomme und daß es Verbindungen zwischen einzelnen Balken des Netzes herstellt und seine Maschen erfüllt.

Mit der Ausbildung des einheitlichen Nukleolarnetzes endigt die erste Vorbereitungsperiode des Kernes. Die zweite Periode nimmt ihren Anfang in der Erscheinung, daß die Maschen des Netzes parallel mit der Längsachse des Kernes länger werden. Die Längszüge überwiegen dann, indem die Querbalken von diesen eingezogen werden (Fig. 20, 39, 40). An Querschnitten aus solchen Stadien sehen wir, daß die Querbindungen der Längszüge spärlich sind (Fig. 40). Die Folge dieses Prozesses ist die, daß die Längszüge schließlich frei werden und sich in feine Längsfasern spalten (Fig. 39, 41). Der Kern hat inzwischen seine hufeisenförmige Gestalt und horizontale Lage bewahrt. Jetzt beginnt seine Kon-

zentration, seine Konturen schrumpfen zusammen, der Kern nimmt die Gestalt eines unregelmäßigen Knotens an und stellt sich parallel mit der Längsachse des Körpers. Er tritt nun in ein sehr kurzes Ruhestadium ein, welches dem nachherfolgenden, schnellen Teilungswachstum vorangeht. Das ganze Nukleolarnetz ist in ein dichtes Bündel von parallelen, freien Längsfasern zerfallen, welch letztere longitudinal und, da der Kern kontrahiert ist, wellenartig verlaufen und den ganzen inneren Kernraum erfüllen. Die Fasern sind gleichmäßig vom Chromatin bedeckt. Sie verlaufen isoliert voneinander, nur sehr selten und nach langem Suchen finden wir noch eine Querverbindung (Fig. 29), aber auch die schwindet allem Anscheine nach später. Die Verbindung der Nukleolarfasern vermittelt das Lininnetz. Wir haben also eine typische, aus Nukleolarsubstanz gebildete und gleichmäßig mit Chromatin bedeckte Spindel vor uns, die in das Lininnetz eingelagert ist. Damit kommt die zweite Periode und die erste Hälfte der ganzen Teilung zu ihrem Ende.

Der Kern fängt nun an zu wachsen. Es stellt sich jetzt das rapide Teilungswachstum ein, der Kern wächst in die Länge und nimmt eine stabförmige Gestalt an. Dabei werden die distalen Enden in sehr zahlreichen Fällen keulenartig verdickt, horizontal umgebogen usw. Mit dem wachsenden Kern verlängern sich auch die Nukleolarfasern, sie wachsen in die Länge und durchziehen dann den ganzen Kern der Länge nach, sie sind ganz isoliert und in das Lininnetz eingebettet. Sobald aber der Kern seine Maximalgröße erreicht, werden die distalsten Enden einzelner Nukleolarfasern dicker, schnüren sich ab und wandeln sich auf einfachste Weise wieder in die Nukleolen um. Besonders bei gut genährten, lebenskräftigen Tieren, also dort, wo das Nukleolarnetz feinwabig war, zerfallen die distalen Teile der Längsfasern sehr frühzeitig in Nukleolen, schon zu der Zeit, wo von der teilenden Rinne in der Mitte des Kernes noch keine Spur vorhanden ist. Zuerst geschieht das in den keulenförmig verdickten diametralen Enden des Kernes, dann an der ganzen Kernperipherie. Am längsten erhalten sich die Kernfasern in der Mitte des Kernes.

Das Chromatin kann mit seinem Quantum nicht dem plötzlichen Wachstum der Nukleolarfasern folgen. Infolgedessen wird es durchgerissen und zerfällt in kleine Körnchen, die dann frei an den Nukleolarfasern liegen. Namentlich in der Mitte des Kernes sind diese Verhältnisse gut zu verfolgen. Einen solchen Kern zeigt Fig. 22; isolierte Fasern, bei denen aus distalen Enden wieder die Nukleolen entstehen, zeigen Fig. 30 u. 31. Daß hier von Chromosomen gar

keine Rede sein kann, ist selbstverständlich; das Chromatin verhält sich in ähnlicher Weise wie bei den elementaren PFITZNER'schen Mikrosomen.

Nun kommt es allmählich zur Durchschnürung des Kernes. Während dies geschieht, nehmen die distalen Enden des alten gemeinsamen Kernes schon die horizontale Lage ein, und dort werden die neuen Nukleolen schon massenhaft gebildet (Fig. 36). Wenn der Kern durchgeschnürt ist, bleibt noch eine kurze Zeit ein aus der Kernmembran gebildeter Zapfen an der Durchschnürungsstelle erhalten, er wird aber frühzeitig eingezogen. Die Nukleolarfasern wandeln sich unterdessen alle in Nukleolen um (Fig. 23). Wenn der Tochterkern im neuen Tiere noch in schiefer Lage steht, sind die meisten Nukleolen schon fertig, einige von ihnen aber durch dünne Brücken — letzte Reste der Fasern — miteinander verbunden; manche sind bereits wieder von einem hellen Höfchen umgeben (Fig. 44). Sehr bald darauf nimmt der Kern eine horizontale Lage ein und erreicht seine ursprüngliche hufeisenförmige Gestalt.

Das Chromatin folgt passiv den Bewegungen und dem Zerfall der Nukleolarsubstanz nach. Sobald diese in Nukleoli zerfallen ist, werden diese vom Chromatin wieder gleichmäßig überzogen.

Aus dieser ganzen Schilderung leuchtet beim ersten Anblick die außerordentliche Wichtigkeit und Selbständigkeit der Nukleolarsubstanz ein. Sie bringt die Teilung des Kernes hervor, indem sie sich zu einem Netz konzentriert, aus dem eine Spindel hervorgeht; die Fasern dieser im Linin eingebetteten Spindel wachsen dann, so daß das Chromatin in Körner zerfällt; sie teilt die Chromatinmasse und den Kern in zwei gleiche Hälften.

Schon SCHAUDINN hat bei der Teilung von Amoeba crystalligera die Bedeutung der Nukleolarsubstanz hervorgehoben: „Der als Nukleolus bezeichnete Teil des Kernes scheint bei der Durchschnürung des Kernes ... die Hauptrolle zu spielen.“ Ein nahes Analogon unseres Nukleolarnetzes sind jene dendritische Plastingebilde, die R. HERTWIG bei der Kinese des Kernes von Actinosphaerium beschrieben hat. In unserem Falle ist die Nukleolarsubstanz einerseits in größerem Quantum vorhanden, andererseits tritt sie mit größerer Selbständigkeit hervor.

Dort, wo es zur Bildung einer spindelartigen Figur bei der Kernteilung kommt, ist sie gewöhnlich bloß aus dem Linin hergestellt (Actinosphaerium R. HERTWIG, Ceratium LAUTERBORN, Noctilnca etc. DOFLEIN), das Plastin wird zur Bildung der Pseudochromosomen verwendet. Es ist aber von Interesse, daß LAUTERBORN

bei Ceratinm ein stäbchenförmiges, wahrscheinlich aus Plastin bestehendes Gebilde erwähnt, welches in der aus Linin gebildeten Teilungsfigur seine Selbständigkeit bewahrt und wahrscheinlich in toto geteilt wird. Daß der Teilungsmodns, den wir bei unserem Infusor beschrieben haben, eine weitere Verbreitung bei den Protozoen hat, können wir ans manchen Abbildungen verschiedener Forscher mit Sicherheit schließen. Jedoch wurden diese Bilder größtenteils irrig gedeutet. Ich führe in dieser Beziehung ein eklatantes Beispiel an, nämlich einige Beobachtungen Rhumbler's an Saccamina. Er beschreibt zwei „pathologische“ Kerne. Er sah in einigen Fällen Kerne, die merkwürdigerweise bloß auf ein einziges seiner Kernstadien beschränkt sind; sie werden dadnrch charakterisiert, daß sie länglich sind und von zahlreichen longitudinalen Fäden durchzogen werden; auch die Binnenkörper sind lang und zylinderförmig. Rhumbler sagt: „Ein genaueres Studinm beschränkt dagegen die Vorkommnisse ganz auf das achte Stadium, was allerdings sehr auffällig ist, aber vielleicht dadnrch erklärt werden kann, daß der in diesen Kernen schmarotzende Pilz gerade auf diesem seine günstigen Nährbedingungen findet. . . . Eine Vorliebe dieses Pilzes, wenn meine Auslegung der gleich zn schildernden Fäden als Pilze wirklich zutrifft, scheint aber ans den zehn Fällen für das achte Stadium immerhin mit großer Wahrscheinlichkeit hervorzugehen. — Der ganze Kern wird nun von Fäden durchzogen, welche in sehr verschieden dichtem Gewirr bald einzelne Stellen des Kernes besonders, bald das ganze Kernlumen mehr oder weniger gleichmäßig befallen zu haben scheinen. Man wird sich in jedem Falle den Verlanf der Fäden in frischem Zustande viel loser vorzustellen haben, als er im konservierten Zustande erscheint. Hier sind die Fäden dnrch den Druck der zusammengesunkenen Kernwandnng dichter aneinander gedrängt worden. Die Fäden sind in der Regel an ihren beiden Enden abgerundet, wobei sich die Endeu noch knopfartig verdicken können, so daß zuweilen annähernd hantelförmige Gestalten entstehen. — Beide Vorkommnisse ließen sich mit einiger Glaublichkeit dahin deuten, daß gerade die an der Kernperipherie zu einem dichten Wandbelag znsammengepreßten Binnenkörper in besonders hervorragendem Maße eineu günstigen Nährboden für Pilzentwicklung darböten.“

Soweit Rhumbler. Beim ersten Anblick seiner Bilder gewinnen wir die Überzeugung, daß es sich hier um einen ganz ähnlichen Fall handelt, wie wir ihn gerade beim Didinium skizziert haben.

In den Kernen verschiedener Ciliaten werden wir sicher zahl-

reichen Variationen begegnen. In einer großen Zahl von Fällen geschieht die Teilung des Makronnkleus bloß durch Umordnung des Wabenbaues, nnd die Streifung ist bloß ans Linin gebildet (R. Hertwig, Bütschli, Maupas, Rompel, Doflein etc.). Daß aber bei manchen Formen auch die Nnkleolarsnbstanz an der Teilung des Makronukleus in verschiedenem Maße Anteil nimmt, können wir aus Bildern und Andentungen mancher Forscher wohl schließen. So hat Balbiani einen sehr ähnlichen Teilnngsmodus, zwar mit nicht ganz entsprechender Deutnng, bei Loxophyllum meleagris beschrieben. Die Bilder Schewiakoff's sprechen entschieden dafür, daß die Nukleolarsubstanz bei vielen Ciliaten im Kern eine wichtige Rolle spielt. Ähnliches finden wir auch bei Boveria (Stevens) und Trachelius (Cl. Hamburger).

Der beschriebene Teilungsmodus ist ein spezieller Fall der akinetischen Kernteilung, vielleicht der erste Anlanf zu der Mitose, wo das gesamte Chromatin durch den Mechanismus der Nukleolarsubstanz in zwei qnantitativ gleich große Hälften zerlegt wird. Dieser Prozess steht etwas höher als der gewöhnliche Teilungsmodus des Ciliatenkernes durch Umordnung des Wabengerüstes. Von der Bildung der Äquatorialplatte und den polaren Differenzierungen ist hier noch keine Spnr wahrznnehmen. Das wichtigste Agens ist hier die Nukleolarsubstanz. Wenn wir einige allgemeinere Folgerungen aus unserem Falle ziehen wollen, so erblicke ich in dem beschriebenen Teilungsmodus bei Didininm einen guten Beleg für den Satz Haecker's: „Die Kontinuität der Kernteile liegt demnach in der Grundsubstanz, welche dem Achromatin oder Linin, zum Teil auch dem Plastin der Antoren entspricht."

Am Ende will ich noch mit einigen Worten der Veränderungen, welche mit dem Hunger verbunden sind, und dann der Kerne mit großen Binnenkörpern gedenken, obzwar die Ursachen der Entstehnng dieser Binnenkörper erst dnrch Experimente definitiv erklärt werden können.

Wenn wir Didinien hungern lassen, sind die Veränderungen des Sarcs, die wir oben verzeichnet haben, von Veränderungen in den Kernstruktnren begleitet. Als den Ausgangspunkt unserer Betrachtungen wollen wir jene Kerne wählen, welche gut genährt waren und zahlreiche kleine Nukleoli enthielten. Die Veränderungen beim rapiden Hungern stellen sich sehr frühzeitig ein. Die Kernmembran bekommt Falten. Das erklären wir leicht dadurch, daß der Kernsaft zuerst verzehrt wird, infolgedessen verkleinert sich der Kern ein wenig und die dicke und konsistente Kernmembrau wird

gefaltet. Wenn dieses Verzehren weiter geht, stellt sich die Konzentration des Lininnetzes ein, so daß dieses dann dunkler erscheint. Das Chromatin an den Nukleolen wird verbraucht. Die Nukleolen werden blasser, in ihrer Mitte erscheint eine hellere Stelle, die sich vergrößert, und schließlich verlieren die Nukleolen ihr Chromatin vollständig.

Die Degenerationserscheinungen, welche im Kern zutage treten, kann man nicht in zwei Perioden zerlegen, wie wir es beim Sarc getan haben; es herrscht hier eine größere Variabilität. Was die äußere Form des Kernes anlangt, so behält der Kern in den meisten Fällen seine ursprüngliche hufeisenförmige Gestalt bis an das Ende, bloß seine Membran erfährt größere oder kleinere Faltungen. Hier und da, wenn das Mißverhältnis zwischen beiden Zellbestandteilen zu schroff ist, rollt sich der Kern in ein Knäuel zusammen, oder er wird in einige rosenkranzförmige Abteilungen eingeschnürt. Ziemlich oft ziehen sich beide Kernarme ein wenig zusammen und es wird ein dritter Lappen ausgebildet (Fig. 47). In sehr seltenen Exemplaren werden auch kugelförmige Abschnitte von dem übrigen Kern abgetrennt. — Die Nukleolen halten länger aus als das Lininnetz. Wenn dieses schon seiner vollständigen Destruktion anheimgefallen war, konnte man noch in seinem Innern Nukleolen wahrnehmen. Die Membran bleibt bis zur Encystierung erhalten. Im letzten Stadium sieht der Kern wie ein fast leerer, wurstartiger Sack aus, in dem wir nur noch die letzten Reste des Linins und Plastins erblicken. Noch in der ersten Cystenzeit, wenn die Cystenmembran mit ihrem Saum schon ausgebildet ist, finden wir einen bandartigen, hohlen und leeren Kern vor. Bei diesem ganzen Prozesse des Hungerns sind die Nukleolen klein geblieben. Schon daraus geht ohne jeden Zweifel hervor, daß das Vorkommen von derartigen großen Binnenkörpern, wie sie die Fig. 48—50 darstellen, nicht als Folge des Hungerns gedeutet werden kann.

Wie wir schon gesagt haben, entstehen sie größtenteils durch das Zusammenfließen von kleineren Nukleolen. Schließlich können alle Nukleolen in eine gemeinsame Masse verschmelzen (vgl. Fig. 47—50). Nach dem ganzen Aussehen der Tiere halte ich dafür, daß so große Binnenkörper Folgen der Seneszenz der Tiere sind. Allerdings muß die Frage erst durch Experimente entschieden werden. Es sei hier nur daran erinnert, daß schon Pfitzner bei den senilen und degenerierenden Blutkörperchen eine Vergrößerung und Anhäufung der Nukleolarmasse verzeichnet hat. Auch an solchen großen Binnenkörperchen wird das Chromatin gelegentlich, wohl in-

folge des Hungers, verbraucht auf ähnliche Weise, wie es bei den kleinen Nukleolen war. Zuerst kommt eine hellere Stelle am Nukleolus zum Vorschein (*x*); solche Stellen können in Mehrzahl auftreten (*z*) und werden immer heller (*y*). Dann treten vollständig chromatinfreie Räume an Nukleolen hervor (*2*) und schließlich erhalten wir solche Binnenkörper, deren Chromatin fast vollständig verbraucht wurde (Fig. 50b, c).

Es ist eine auffallende Erscheinung, daß ich in Kulturen solcher Tiere gar keine Teilungsstadien auffinden konnte. Die Verhältnisse der Kernstrukturen liefern hierfür eine gute Erklärung. So große Binnenkörper sind nicht imstande eine Teilungsspindel auszubilden. Das folgt daraus, daß die Teilung in der Tat von der Nukleolarsubstanz ausgeht. In einigen früheren Stadien können wir hier und da Anläufe zur Bildung des Nukleolarnetzes erblicken (Fig. 51), augenscheinlich ein Versuch, das entstandene Kernplasmamißverhältnis aufzugeben.

Prag, Anfang November 1904.

Literaturverzeichnis.

ALBIANI: Observations s. l. Didinium nasutum. Archiv zoolog. expér. et géner. T. II 1873.

—: Sur la structure intime du noyau du Loxophyllum meleagris. Zool. Anzeiger Bd. XIII.

BERGH, R. S.: Über Stützfasern in der Zellsubstanz einiger Infusorien. Anatom. Hefte 1896.

—: Berichtigung. Zool. Anzeiger Bd. XIX.

BEZZENBERGER, E.: Über Infusorien aus asiatischen Anuren. Arch. f. Protistenk. Vol. 3 1904 p. 138—174 Taf. XI.

BINET: La vie psychique des Microorganismes. Übersetzt von W. MEDICUS (Das Seelenleben der kleinsten Lebewesen). Halle a. S. 1892.

BLOCHMANN: Über die Kernteilung bei Euglena. Biol. Centralbl. 1894.

—: Trichitenapparat und Reusenapparat. Zool. Anz. Bd. XX.

—: Die mikroskopische Tierwelt des Süßwassers. I. Protozoa. Hamburg 1895.

BORGERT: Über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anatomie Bd. 14 1901.

BRAUER, A.: Bursaria truncatella unter Berücksichtigung anderer Heterotrichen und der Vorticellinen. Jenaische Zeitschr. Bd. XIX 1886.

BÜTSCHLI: Protozoa, III. Abt.: Infusoria. BRONN's Klassen und Ordnungen I. Bd. 1889.

DOFLEIN: Über die Kernteilung bei Kentrochona nebaliae. Zool. Anz. Bd. 19.

ENGELMANN: Zur Naturgeschichte der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XI 1862.

Entz, G.: Beiträge zur Kenntnis der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 38.

Erlanger: Neuere Ansichten über die Struktur des Protoplasmas, die karyokinetische Spindel und das Centrosom. Zool. Centralbl. Jahrg. III.

—: Über die Morphologie der Zelle und den Mechanismus der Zellteilung. Ibid. Jahrg. IV.

—: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. IV. Zur Morphologie und Physiologie der Kern- und Zellteilung. Zool. Jahrb., Abt. f. Anatomie Bd. 14 1901.

Fabre Domergue: A propos des „Trichiten" et des „Stützfasern" des Infusoires ciliés. Zool. Anz. Bd. XX.

—: Recherches anatomiques et physiologiques sur les Infusoires ciliés. Ann. Sci. Nat. (7) T. 5 1888.

Frenzel: Die nukleoläre Kernhalbierung. Arch. mikr. Anat. Bd. 39.

—: Die Mitteldarmdrüse des Flußkrebses und die amitotische Zellteilung. Arch. mikr. Anat. Bd. 41.

Goldschmidt: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. Biol. Centralbl. Bd. XXIV.

Gruber: Über Kern und Kernteilung bei den Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 40.

Haecker: Bastardierung und Geschlechtszellenbildung. Festschr. f. Weismann, Zool. Jahrb. 1904.

Hamburger, Cl.: Beiträge zur Kenntnis von Trachelius ovum. Arch. f. Protistenk. Bd. II 1903 p. 445 Taf. XIII u. XIV.

Heidenhain, M.: Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellenprotoplasma. Arch. mikr. Anat. Bd. 43.

—: Beiträge zur Kenntnis der Topographie und Histologie der Kloake und ihrer drüsigen Adnexa bei den einheimischen Tritonen. Arch. mikr. Anat. Bd. 35.

Hertwig, R.: Über die Bedeutung der Nukleolen. Sitz.-Ber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. München 1898.

—: Über Centrosoma und Centralspindel. Ibid. 1895.

—: Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. I.

—: Über den Bau und die Entwicklung der Spirochona gemmipara. Jen. Zeitschr. Bd. 11.

—: Über die Konjugation der Infusorien. Abhdlg. bayr. Akad. Wissensch. München. II. Kl. Bd. 17.

—: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhorni. Ibid. Bd. 19.

—: Die physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhorni. Festschr. f. Haeckel 1904.

—: Über Encystierung und Kernvermehrung bei Arcella vulgaris. Festschr. f. C. v. Kupffer 1899.

—: Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. 1903.

—: Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. München 1903 (Lehmann).

Hickson & Wadsworth: Dendrocometes paradoxus. Konjugation. Q. Micr. Journ. Vol. 45.

Hofer: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Kerns auf das Protoplasma. Jena 1889.

Jickeli: Die Unvollkommenheit des Stoffwechsels als Veranlassung für Vermehrung, Wachstum, Differenzierung, Rückbildung und Tod der Lebewesen im Kampf ums Dasein. Berlin 1902.

Kasanzeff: Experimentelle Untersuchungen über Paramaecium caudatum. Inaug.-Dissert. Zürich 1901.

Keuten: Die Kernteilung von Englena viridis Ehrb. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 60.

Korschelt: Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei Ophryotrocha puerilis. Ibid. Bd. 60.

—: Über die Struktur der Kerne in den Spinndrüsen der Raupen. Arch. mikr. Anat. Bd. 47.

Lang, A.: Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere. 2. Aufl. 2. Lief. Protozoa. Jena 1901.

Lauterborn: Kern und Zellteilung von Ceratium hirundinella O. F. M. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 59.

Lubosch: Untersuchungen über die Morphologie des Neunaugeneies. Jen. Zeitschr. Bd. 38 1904.

Maier: Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. II 1903.

Maupas: Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés. Arch. zool. expér. et géner. (2 s.) VI 1888.

—: Contributions à l'étude morphologique et anatomique des Infusoires ciliés. Ibid. (2) T. 1.

Mitrophanow: Nouvelles recherches sur l'appareil nucléaire des Paramécies. Arch. zool. expér. et géner. (4) T. 1.

Neresheimer: Über die Höhe histologischer Differenzierungen bei heterotrichen Ciliaten. Arch. f. Protistenk. Bd. II.

Pfitzner: Zur pathologischen Anatomie des Zellkerns. Virchow's Arch. f. pathol. Anatomie etc. 103.

—: Zur Kenntnis der Kernteilung bei den Protozoen. Morph. Jahrb. 11.

Prowazek: Protozoenstudien I—III. Arb. zool. Institut. Wien Bd. 12—14.

Reincke: Zellstudien. Arch. mikr. Anat. Bd. 43.

Rhumbler: Über Entstehung und Bedentung der in den Kernen vieler Protozoen und in Keimbläschen von Metazoen vorkommenden Binnenkörper (Nukleolen). Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 56.

—: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. II. Saccamina sphaerica M. Sars. Ibid. Bd. 57.

Rompel: Kentrochona nebaliae n. gen., n. sp., ein neues Infusor aus der Familie der Spirochoninen, zugleich ein Beitrag zur Lehre von der Kernteilung und den Centrosomen. Ibid. Bd. 58.

Schaudinn: Die Fortpflanzung der Foraminiferen und eine neue Art der Kernvermehrung. Biol. Centralbl. 1894.

—: Untersuchungen an Foraminiferen. I. Calcituba polymorpha Roboz. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 59.

—: Über Kernteilung mit nachfolgender Körperteilung bei Amoeba crystalligera. Sitz.-Ber. kgl. preuß. Akad. Wiss. Berlin 1894.

—: Bau und Fortpflanzung von Leydenia gemmipara. Ibid. 1896.

—: Über den Zeugungskreis von Paramoeba eilhardi. Ibid. 1896.

—: Untersuchungen über den Generationswechsel von Trichosphaerium sieboldi Schm. Abh. d. kgl. preuß. Akad. Wiss. Berlin 1899.

—: Über die Teilung von Amoeba binucleata Gruber. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin 1895.
—: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arh. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XIX Heft 3 1903.
Schewiakoff: Beiträge zur Kenntnis der holotrichen Ciliaten. Bibliotheca zoologica (Leuckart & Chun) Heft 5 1889.
—: Über die karyokinetische Kernteilung der Englypha alveolata. Morph. Jahrb. Bd. 13.
Schuberg: Über den Bau der Bursaria truncatella; mit besonderer Berücksichtigung der protoplasmatischen Strukturen. Ibid. Bd. XII.
—: Zur Kenntnis des Stentor coeruleus. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. IV.
Schultze, O.: Über den Einfluß des Hungers auf die Zellkerne. Sitz.-Ber. phys. med. Ges. Würzburg 1888.
Stein, F.: Charakteristik neuer Infusoriengattungen. Lotos. Prag Bd. IX 1859.
—: Der Organismus der Infusionstiere. Bd. II. Leipzig 1867.
Stevens: Studies on Ciliate Infusoria. Proceedings of the California Academy of Sciences. Zoology Vol. III 1901.
Tönniges: Die feineren Bauverhältnisse von Opalina ranarum. Sitz.-Ber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. Marburg 1898.*)
Vejdovský & Mrázek: Umbildung des Cytoplasmas während der Befruchtung und Zellteilung nach den Untersuchungen am Rhynchelmis-Ei. Arch. mikr. Anat. Bd. 62.
Verworn: Die physiologische Bedeutung des Zellkerns. Pflüger's Arch. f. ges. Physiologie Bd. 51.
Voigt, M.: Einige Ergebnisse aus den Untersuchungen ostholsteinischer Seen. Plöner Forschungsber. Teil 9 1902.
—: Neue Organismen aus Plöner Gewässern. Ibid.
Wallengren: Inanitionserscheinungen der Zelle. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. I.
Zander: Gegenwärtiger Stand der Lehre von der Zellteilung. Biol. Centralbl. 1892.

Tafelerklärung.

Die totalen Bilder sind mit einem Leitz'schen Mikroskop (Syst. 6, Oc. 2—4) entworfen, die übrigen mit einem Leitz'schen und Zeiss'schen Instrumente (Immers. $^1/_{12}$, Compens. Oc. 4, 8, 18) gezeichnet.

Allgemeine Buchstabenbezeichnungen.

ars Stäbchen aus dem alten Reusenapparat.
bm die untere, stark färbbare Zone der Cuticula.
bs Basalsäume.
cv kontraktile Vakuole.
D Didinium.
dph der distale Teil des Cytopharynx, der beim Verhungern abgeschnürt wird
end Endoplasma.
hd hyalines Plasma des Didinium.

*) Die Arbeit blieb mir unzugänglich.

hp der hyaline, ausgezogene Teil des Paramaecium.
in Einschlüsse des Endoplasmas.
kd Kern des Didinium.
kf Körperfibrille.
kp Kern des Paramaecium.
kr Reihen der Basalkörperchen.
m der sich bildende Mund.
mb Membranulae.
md Mundöffnung.
mf Fibrillen, welche von den Membranulae in das Innere hinziehen, der ersten und zweiten Ordnung.
mn dicke Fibrillen der dritten Ordnung.
nrs neugebildete Stäbchen des Reusenapparates.
P Paramaecium.
p Cuticula.
ph die Wand des Cytopharynx.
phf schwache, äußere Fibrillen des Cytopharynx.
plc der plasmatische Conus, zu welchem die Fibrillen konvergieren.
par der perinucleäre Raum.
pr aus dichtem Plasma gebildeter, stützender Ring um den Cytopharynx.
rs Stäbchen des Reusenapparates.
st der mittlere Strang.
tr Trichiten.
wt Nahrungsvakuole.

Tafel XII.

Fig. 1 stellt den Moment dar, in dem das Paramaecium gerade gefangen wurde und eingezogen wird. Nach einem mit Mallory'scher Methode gefärbten Präparat.

Fig. 2. Ein Teil eines Schnittes, wo das Paramaecium bis etwa in die Hälfte eingezogen wurde, um die Lage der Stäbchen des Reusenapparates und der Basalfibrillen zu demonstrieren (Mallory'sche Färbung).

Fig. 3. Ein Schnitt durch ein Didinium mit völlig eingezogenem Paramaecium. Rekonstruktion des Cytopharynx (Mallory).

Fig. 4 stellt den Moment dar, wo sich die Mundöffnung zu erweitern und das Paramaecium eingezogen zu werden beginnt. Man sieht die Folgen der Wunde am Paramaecium; es werden Vakuolen gebildet.

Fig. 5. Ein Schnitt, welcher die Lage des mittleren Stranges beim Einziehen zeigt (Mallory).

Fig. 6. Ein totales Bild eines hungernden Tieres beim Beginn des Hungerns; nach einem mit Boraxkarmin gefärbten Präparat. Man sieht den gesamten Fibrillenapparat.

Fig. 7. Ein tangentialer Schnitt längs der Pharynxwand (Heidenhain).

Fig. 8. Ein sagittaler Schnitt durch ein rasch verhungertes Tier. Der Fibrillenapparat im Zerfließen begriffen. Der Kern zusammengeschrumpft. (Heidenhain, Rubin S.)

Fig. 9. Ein Schnitt durch ein Didinium, welches ein Paramaecium einzieht, um die Lage des mittleren Stranges zu demonstrieren; das Paramaecium wurde bei der Präparation abgebrochen (Mallory).

Fig. 10. Ein Schnitt durch das hintere Ende eines Didinium mit einem eingezogenen Paramaecium, welches noch mit dem mittleren Strange verbunden ist (Mallory).

Fig. 11. Ein tangentialer, dicht unter der Cuticula geführter Schnitt. Körperfibrillen und Reihen der Basalkörperchen (Heidenhain).

Fig. 12. Ein Querschnitt durch den Reusenapparat, etwa in der Mitte seiner Länge, mit Trichiten (Heidenhain).

Fig. 13. Schnitt durch die vorderen Membranulae (Heidenhain).

Fig. 14. Ein horizontaler Schnitt durch die vorderen Membranulae und ihre Basalsäume (Heidenhain).

Fig. 15. Schnitt durch die hinteren Membranulae (Heidenhain).

Fig. 16. Ein Schnitt durch die mittlere Partie eines sich teilenden Didinium. Das neue Tier (*Dr*) würde sich im nächsten Moment abgetrennt haben. Man sieht die Bildung eines neuen Reusenapparates aus den alten (*ars*) und neugebildete (*nrs*) Stäbchen (Heidenhain).

Fig. 17. Ein gerade folgendes Stadium. Die Bildung des neuen Cytopharynx und das Ordnen der Reusenstäbchen. (Dieselbe Methode.)

Fig. 18. Ein Teil des nukleolaren Netzes an einem etwas dicken Schnitt, wo die Nukleolen mittelgroß waren (Heidenhain).

Fig. 19. Ein Teil des nukleolaren Netzes an einem dünnen Schnitt aus einem Kern, welcher gut genährt war und in dem die Nukleolen sehr klein waren (Mallory und Heidenhain).

Fig. 20. Ein späteres Stadium eines ähnlichen Kernes, wo die longitudinalen Züge zu überwiegen beginnen. (Dieselbe Methode.)

Fig. 21. Ein etwas dicker Schnitt aus einem kontrahierten Kern, wo die Bildung der nukleolaren Spindel bereits vollendet ist (Heidenhain).

Fig. 22. Ein mittlerer Schnitt durch einen stäbchenförmig ausgewachsenen Kern. Das Chromatin zerfällt in einzelne Körner (Heidenhain).

Fig. 23. Schnitt durch einen gerade durchgerissenen Kern. Die Umwandlung der Fäden in Nukleolen (Heidenhain).

Fig. 24. Das erte Stadium der Bildung des nukleolaren Netzes. Die Nukleolen fangen an zu verschmelzen (Heidenhain). Aus einem gut genährten Kern.

Fig. 25. Das nächstfolgende Stadium. Die Nukleolen sind etwas größer. Bildung der verbindenden Züge (Heidenhain).

Fig. 26. Ein Teil des nukleolaren Netzes, wo die Nukleolen noch gut bemerkbar sind (Heidenhain).

Fig. 27. Ein späteres Stadium, wo die Züge schon ausgeglichen sind (Heidenhain).

Fig. 28. Ein Teil des nukleolaren Netzes aus einem gut genährten Kern, wo die Nukleolen sehr klein sind (Heidenhain).

Fig. 29. Zwei Fasern aus dem kontrahierten Kern, wo das Chromatin die Nukleolarfasern noch gleichmäßig bedeckt (Heidenhain).

Fig. 30. Der distale Teil einer Nukleolarfaser aus dem stäbchenförmigen Kern. Im Innern des Kerns ist die Chromatinmasse in Mikrosomen zerrissen, an der Peripherie bilden sich schon die Nukleolen (Heidenhain).

Fig. 31. Bildung der Nukleolen aus einer Faser (Heidenhain).

In diesen sämtlichen Figuren (18—31) wurden die Lininverhältnisse nicht eingezeichnet.

Fig. 32. Der distale, abgeschnürte Teil des Cytopharynx eines verhungerten Tieres, wo die Reusenstäbchen im Zerfließen und Zerfall begriffen sind (Heidenhain + Rubin S).

Tafel XIII.

Fig. 33. Längsschnitt durch ein Didinium, welches vor der Teilung steht (die zweite Vakuole cv_2 und die vier Kränze der Membranulae ausgebildet) (Mallory).

Fig. 34. Ein etwas schiefer Querschnitt durch die Basis des Cytopharynx (Mallory).

Fig. 35. Ein sich teilendes Tier. Nukleolarspindel im stäbchenförmigen Kern (Mallory). An der Peripherie des Kernes bilden sich schon die Nukleolen aus. Ein etwas dicker Schnitt.

Fig. 36. Ein Schnitt durch ein gerade abgeschnürtes vorderes Tier. Die distale Partie des Kernes geht schon in die horizontale Lage über. An der Peripherie bilden sich die Nukleolarfasern schon in die Nukleolen um (a). Bei b sind die Nukleolen schon abgerundet (Mallory).

Fig. 37. Ein Schnitt durch einen normalen Kern (Mallory).

Fig. 38. Anfang der Bildung des Nukleolarnetzes bei einem ähnlichen Kern. *nc* die Nukleolen, *r* die schon ausgebildeten verbindenden Züge, *v* die sich bildenden Züge. (Dieselbe Methode.)

Fig. 39. Ein in die Länge ausgezogenes Plastinnetz; die longitudinalen Züge überwiegen. (Dieselbe Behandlung.)

Fig. 40. Ein Schnitt durch einen peripheren Teil desselben Kernes.

Fig. 41. Freiwerden der Längsfasern (Mallory).

Fig. 42. Nachfolgender Kern, dieselbe Färbung.

Fig. 43. Ein etwas dicker Schnitt aus einem kontrahierten Kern; Nukleolarspindel (Mallory).

Fig. 44. Schnitt durch einen noch schief liegenden Kern in einem gerade abgetrennten Tiere. Bildung der Nukleolen. Bei a schon beinahe fertig und abgerundet, bei b eine sich verdickende Faser (Mallory).

Fig. 45. Kleine Binnenkörper und ihr erstes Verschmelzen; in einigen werden Vakuolen gebildet (*vcn*) (Mallory).

Fig. 46. Ein etwas alter Kern; Anläufe zur Bildung des Nukleolarnetzes (Mallory).

Fig. 47. Ein hungernder Kern mit größeren Nukleolen. Ein dritter Lappen *b* ausgebildet. Bei *n* Bildung eines großen Binnenkörpers durch Verschmelzen kleinerer Nukleolen. Bei x, y, z_2 Nukleolen, deren Chromatin schon verbraucht wird (Heidenhain). Schnitt.

Fig. 48. Ein Schnitt durch einen Kern mit großen Binnenkörpern (Heidenhain).

Fig. 49. Schnitt durch einen Kern, wo die Nukleolarsubstanz in eine gemeinsame Masse verschmolzen ist und das Chromatin teilweise verbraucht wird (Heidenhain).

Fig. 50. Schnitt durch einen Kern mit zwei großen, fast vollständig leeren Binnenkörpern (*bc*) (Heidenhain).

Fig. 51. Schnitt durch einen Kern mit Anlauf zur Bildung des Nukleolarnetzes (Heidenhain).

Notes sur quelques Amibes et Choanoflagellates.

Par

H. Schouteden (Bruxelles).

(Avec 12 figures dans le texte.)

I. Amœbiens.

1. Amœba angulata Mer.

Dans son mémoire „Studien über Protozoen des nördlichen Rußlands“ Mereschkovsky cite une Amœba angulata n. sp., dont la description et la figure sont cependant trop insuffisantes pour permettre une identification exacte, comme c'est d'ailleurs le cas pour plusieurs des Amibes décrites dans ce travail. Cette Amœba est restée inconnue à Penard qui toutefois dans son grand ouvrage „Faune Rhizopodique du Bassin du Léman“ se demande si A. angulata ne serait pas identique à son A. vespertilio, espèce qui peut prendre des aspects rappelant la figure publiée par Mereschkovsky. Cette Amibe semblait donc devoir subir le sort de tant d'autres, restées incertaines faute d'une description convenable. Cependant, avant la publication de l'ouvrage de Penard, Rhumbler, dans son remarquable mémoire „Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen in der Zelle“, cite une espèce qu'il identifie avec A. angulata Mer. et sur laquelle il a fait une partie de ses observations; malheureusement Rhumbler ne décrit pas son espèce, et spécialement la structure du noyau, et ses figures sont naturellement un peu schématiques pour l'explication des phénomènes qu'il signale.

Ayant donc eu l'occasion d'étudier et de suivre pendant plusieurs mois une Amibe qui répond bien aux dessins de Rhumbler et également à la figure donnée par Mereschkovsky, je crois utile d'en

donner la description et de fixer ainsi définitivement le nom de Amœba angulata.

J'ai rencontré cette espèce en assez grande abondance dans un récipient en verre renfermant de l'eau que j'avais recueillie aux environs de Bruxelles. Elle y vivait indifféremment sur les parois du bocal et sur la couche de terre qui en couvrait le fond. L'Amibe se nourrissait principalement de Scenedesmus et autres petites Algues abondantes dans ce milieu.

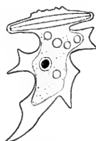


Fig. 1.

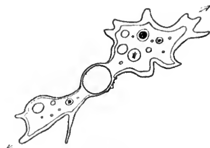


Fig. 2.

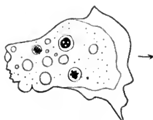


Fig. 3.



Fig. 5. Fig. 4.

Fig. 1—5. Amœba angulata Mer.

1. Un spécimen ayant englobé une Diatomée. — 2. Autre spécimen „coulant" dans deux directions opposées, la queue restant vers le milieu. — 3. Amibe qui a pris momentanément un aspect moins angulé. — 4—5. Défécation. En 5 le plasma qui entourait la vacuole revient s'ajouter à la queue.

La taille de l'organisme peut varier assez notablement, mais en moyenne elle atteint 40 à 70 μ. Le protoplasme est clair et assez transparent, assez réfringent, avec une bordure fort nette et assez large d'ectoplasme, sauf vers l'extrémité postérieure dans la marche; à la surface on distingue une membrane assez nettement tranchée, surtout à l'arrière, tandis qu'à l'avant de l'organisme elle

est souvent indistincte. L'endoplasme renferme de nombreuses petites granulations d'un vert pâle, tendant quelquefois au jaunâtre, et dont l'une ou l'autre pénètre parfois dans l'ectoplasme. En outre, on trouve des inclusions, en général peu nombreuses: vacuoles nutritives à différents stades, renfermant en général des Sceuedesmus, ou encore des Diatomées, des Protococcales, etc. Je n'ai jamais rencontré de cristaux ni Glanzkörper.

En général il n'y a qu'une seule vacuole contractile active, assez grosses, à contractions espacées, mais souvent il s'en forme déjà une nouvelle alors que celle qui existait auparavant n'a point encore disparu. Elle se vide à l'extérieur, en faisant parfois saillie fortement, de façon à rappeler les dessins qu'a donnés Mereschkovsky (qui admet une expulsion du contenu à l'extérieur) de son Amœba emittens et également ceux qu'a publiés Prowazek d'une Amibe marine, dont la vacuole viendrait oxygéner ainsi son contenu dans le liquide ambiant pour se vider ensuite à l'intérieur du corps; elle se vide lentement sous la poussée du protoplasme qui refoule le liquide vers l'extérieur.

Le plasma renferme en outre des vacuoles non contractiles, mais peu nombreuses le plus souvent, bien que fréquemment elles soient d'assez grande taille.

Le noyau est caractéristique: il présente une membrane peu apparente et un gros nucléole le remplissant en grande partie; ce nucléole est arrondi, compact, mat, creusé de une à quatre ouvertures (en général deux ou trois). Il est unique, assez gros. Bien que sa forme habituelle soit sphérique, on en rencontre parfois qui sont ovalaires, en biscuit, tout en conservant le même aspect compact du nucléole.

L'aspect de l'Amibe pendant la marche est également caractéristique. La forme générale est un peu semblable à celle de Amœba spumosa Gruber, A. nobilis Pen., etc., c'est-à-dire qu'elle s'élargit antérieurement, où elle présente fréquemment un aspect palmé plus ou moins accentué. Mais elle peut varier considérablement, l'organisme prenant les formes les plus diverses, bien que presque toujours il présente un contour plus ou moins anguleux. Le plasma est fort fluide et la marche est rapide, l'Amibe émettant des pseudopodes en général peu longs mais larges et angulés; ces pseudopodes peuvent naître tant sur les côtés du corps qu'à l'avant, où ils sont toujours plus développés et plus persistants, tandis qu'il ne s'en produit pas à l'arrière; dans la marche activée ils se superposent fréquemment et sont plus bombés que lorsque l'Amibe coule simplement sur le

support en s'étalant en avant en nappe palmée. Au premier abord on aperçoit plusieurs de ces pseudopodes à l'extrémité antérieure de l'organisme; mais un examen attentif permet de constater qu'en général un seul de ceux-ci sert réellement à la marche: de trois pseudopodes émis d'abord, par exemple, un seul continuera à recevoir un apport aussi abondant de protoplasme, tandis que les autres disparaitront peu-à-peu, en même temps que de nouveaux pseudopodes se sont déjà reformés à l'avant et prennent la place du premier. La marche se fait ainsi par coulées successives dans des pseudopodes successivement émis, chacun disparaissant à son tour pour faire place à un voisin mieux favorisé. En même temps il se produit fréquemment des émissions latérales de plasma et parfois l'un de ces pseudopodes latéraux devient le pseudopode principal, tout le plasma coulant vers lui, et la marche de l'Amibe change de direction.

La formation des pseudopodes est rapide, moins brusque toutefois que chez A. limicola Rh.; ils sont presque toujours angulés et sont vraiment caractéristique de l'espèce.

Amœba angulata prend fréquemment des aspects rappelant A. vespertilio Pen., A. spumosa Grub., etc., mais elle se distingue à première vue, même sur le vivant, de ces espèces par la structure de son noyau et également par son aspect angulé, si on l'observe pendant quelque temps. Il n'est pas rare non plus de trouver des exemplaires dont la forme est identique à la figure que donne Mereschkovsky de son A. filifera, qui toutefois a une marche lente et un noyau apparemment compact, et de plus habite la mer, — ce dernier point n'ayant d'ailleurs qu'une importance toute relative, G. Entz notamment nous ayant montré que dans l'eau de mer on rencontre des formes identiques aux formes d'eau douce.[1])

Dans la marche, on constate aisément que l'organisme présente une „queue", bien moins développée que chez A. fasciculata par exemple, mais qui cependant est fort nette, rappelant par son aspect celle que l'on trouve chez A. nobilis ou A. spumosa. Il est rare qu'elle soit découpée, et elle ne l'est d'ailleurs jamais de façon accentuée; mais toujours on lui distingue un contour irrégulier, chiffonné, si je puis m'exprimer ainsi. Comme d'habitude elle est formée de plasma condensé. — C'est dans la partie caudale de l'organisme que se fait la défécation, qu'il est aisé de constater: les résidus de la nutrition

---

[1]) Outre quelques Amibes inconnues dans l'eau douce j'ai également rencontré dans le Pas-de-Calais, durant un séjour au Laboratoire de zoologie du Portel, Amœba limax que Entz avait déjà signalée comme espèce marine.

arrivés près de la surface sont expulsés un à un, et le protoplasme qui les entourait revient s'ajouter à la masse de la queue, s'y fondant après quelque temps.

Il est intéressant de signaler que cette queue est assez persistante: Non seulement elle existe chez les individus en marche normale, mais si l'on observe l'un d'eux lorsqu'il veut renverser le sens de sa marche, on ne voit pas comme on le croit souvent l'organisme pousser simplement des pseudopodes à l'extrémité qui jusque là était postérieure et la queue se reformer à l'autre extrémité: en suivant attentivement la queue, on voit que l'Amibe se ramasse d'abord un peu sur elle-même, puis coule son corps du côté désiré, la queue restant là où elle était auparavant, et finalement l'Amibe a repris sa forme normale et se remet en marche en sens inverse, mais avec la même queue qu'auparavant. — Ce même phénomène s'observe fort nettement dans le cas où, comme cela arrive parfois, l'Amibe a poussé deux pseudopodes dans des directions opposées et que ces pseudopodes ont continué à s'étendre chacun de leur côté, transformant donc le corps de l'organisme en un long boyau, la queue se trouvant ainsi reportée au milieu à peu près: finalement, naturellement, un des deux pseudopodes l'emporte, et l'on voit alors le plasma qui remplissait l'autre revenir rapidement vers le premier et accroître sa masse pour reformer le corps; la zone périphérique se condense et vient s'ajouter à la queue, qui a repris sa position terminale, sous forme d'un petit amas lobé ou d'un boudin irrégulier, qui peu-à-peu, mais lentement, rentre dans la masse commune.

Fréquemment lorsqu'avec une pipette on a pris un peu du liquide renfermant les Amibes et qu'on l'a déposé sur le porte-objet, on constate qu'elles se sont arrondies, rentrant leurs pseudopodes, mais elles ne tardent pas, en général, à en émettre de nouveaux, d'abord sur tout leur pourtour, pour finalement se mettre en marche dans un sens donné: dès le début, l'Amibe présente la queue indiquée plus haut, ce qui fait supposer qu'elle s'était conservée pendant la durée de la contraction de l'organisme.

Une lumière vive semble sans action sur les mouvements de l'Amibe, qui ne s'arrondit nullement sous son influence; A. angulata appartient donc à ce point de vue au même groupe que l'Amibe qu'a récemment étudiée Dreyer. Si on la place à la limite d'une région éclairée fortement et d'une autre obscure, on la voit souvent (mais pas toujours) pénétrer d'abord dans cette dernière, mais si alors elle

vient à retrouver la zone éclairée, elle y pénètre sans hésitation aucune. Par une élévation de chaleur déjà faible le mouvement s'accentue, devient plus rapide.

Si sous la lamelle on fait passer un courant d'eau fraîche, on voit l'organisme s'arrondir d'abord, mais il ne tarde pas à s'étaler à nouveau et à se mettre en marche, remontant le courant presque toujours.

Enfin, lorsque la préparation que l'on étudie est faite depuis quelque temps, on voit les Amibes tendre à se rassembler dans les environs des bulles d'air, sur lesquelles elles se promènent de temps à autre en prenant alors un aspect non anguleux, à contours plus arrondis.

Pendant plus de six mois j'ai suivi cette Amibe sans réussir à surprendre une de ces espèces d'épidémie de division que l'on observe parfois et grâce auxquelles on connaît quelque chose, mais si peu encore, de la division des Amibes. J'ai parfois rencontré des individus binucléés et j'en ai vu deux ou trois fois se diviser sous le microscope, mais dans mes préparations je n'ai point rencontré ces stades.

---

2. A propos des mouvements des Amibes.

Jennings a publié récemment dans l'American Naturalist[1]), une note intitulée „Physical Imitations of the Activities of Amœba", dans laquelle il passe en revue les différentes explications qui ont été tentées pour les mouvements des Amibes, et notamment les expériences basées sur une diminution locale de tension superficielle (Amibes artificielles de Gadd, Bütschli, Bernstein, etc.). Comparant ces expériences avec ses observations sur les Amibes, Jennings en vient à conclure qu'il n'y a entre les deux qu'une simple analogie d'aspect, qu'on ne peut aucunement chercher dans les phénomènes de tension superficielle une explication des mouvements des Amibes. Il croit devoir admettre d'après ses observations que le mouvement de ces organismes est un mouvement de rotation in toto autour de l'axe transversal et non pas un mouvement produit par coulée

[1]) Ce travail était à l'impression lorsque j'ai reçu de M. Jennings le mémoire détaillé qu'il a récemment consacré aux Amibes et dont sa note dans l'American Naturalist n'était qu'un résumé. Je compte y revenir plus tard.

du protoplasme dans le sens de la progression comme Rhumbler l'a décrit.

Ayant précisément étudié cette question de locomotion chez quelques Amibes, et spécialement chez A. *angulata*, je crois devoir dire que je ne puis nullement partager l'opinion de Jennings. Et il suffit d'indiquer un détail que néglige semble-t-il l'auteur, et qu'avait déjà signalé d'ailleurs Penard, pour démontrer que le mouvement ne peut être un mouvement à „rolling character“ comme le veut Jennings: si sa théorie est exacte, comment interprèter le mouvement des Amibes à queue? Comment également interprèter les Amibes à éruption brusque de protoplasme par une déchirure de la membrane, comme c'est le cas chez la curieuse A. *limicola* de Rhumbler?

Jennings s'est probablement laissé tromper par les apparences, étudiant sans doute une Amibe analogue par exemple à A. *guttula*, A. *velata*, etc., qui à première vue en effet présentent un aspect tel qu'il le décrit. Si je suis d'accord avec lui pour admettre que les expériences basées sur la tension superficielle ne démontrent rien telles qu'elles sont conçues, c'est-à-dire de façon à provoquer une diminution de tension à la surface *externe* du corps étudié, je ne puis par contre regarder comme si invraisemblable le cas d'une diminution *interne* de tension: que les granulations internes une fois attirées vers le lieu où se produit cette diminution ne soient pas refoulées en arrière, peut aisément s'expliquer en admettant qu'elles sont arrêtées par la résistance des couches adhérant au substrat, dont l'adhérence amène précisément la progression. Rhumbler lui-même dans son remarquable travail dit qu'a priori la diminution de tension peut être provoquée par une cause interne tout aussi bien que par une cause externe, — bien que ses démonstrations soient basées sur ce dernier cas.

Jennings est amené à sa conception par le fait qu'il voit les corpuscules étrangers adhérant à la surface de l'Amibe être entrainés de l'arrière à l'avant. J'ai quelquefois eu également l'occasion de voir un corps étranger adhérer à la surface de la queue de A. *angulata*, mais alors je ne l'ai jamais vu être entraîné vers l'avant que fort lentement jusqu'à ce qu'il soit arrivé dans la région antérieure du corps, où son mouvement s'accélérait: or le mouvement aurait du être continu et uniforme si l'hypothèse de Jennings était exacte dans ce cas.

Pas plus que la théorie de Jennings je ne puis accepter la conception de Penard, qui rejette l'idée d'une rotation de l'Amibe,

mais explique la progression par une série de contractions snccessives, rapprochant la partie postérieure du corps de la partie antérieure adhérant au support par une sécrétion quelconque: il est également impossible d'interpréter de cette façon les Amibes telles que A. angnlata, A. limicola, A. radiosa, etc.

Pour moi, les mouvements de l'Amibe peuvent parfaitement s'expliqner en admettant que pour nne cause quelconque il y a diminution de tension en nn point interne de l'organisme, ce qui amène l'émission d'un pseudopode, et alors comme le dit qnelqne part Rhumbler „auf diese Weise ist die durch Oberflächendrnckverminderung geschaffene Ausbruchstelle des Pseudopodiums wieder durch eine Oberfläche von geringerer Spannnng, weiteres Vordringen des Pseudopodiums veranlassend, überdeckt worden". Qu'une diminution de tension vienne à se manifester en un autre point de la surface tandis qu'il y a progression dans un sens, et le protoplasme s'échappera également par ce nouveau point de moindre résistance, et ainsi de suite.

Comme je l'ai déjà dit, les pseudopodes chez Amœba angulata se localisent snrtout dans la région antérieure du corps, ce qui s'explique aisément se l'on si rappelle que dans cette région la membrane s'amincit de plus en plus, et livre plns facilement passage aux pseudopodes. Ce point est confirmé par le fait que si, comme on y réussit parfois, on écrase l'Amibe sous le microscope en pressant sur le deck-glass, elle laisse toujours échapper son contenu par l'extrémité qui était antérieure dans la marche. Et si alors on cesse la compression, on voit à la place de l'Amibe une pellicule fort nette, reprodnisant son contonr; la partie postérieure renferme une sorte d'amas condensé, répondant à la queue, d'où partent des plis dirigés longitudinalement; vers l'avant la pellicule s'amincit, et antérieurement elle est ouverte, là où elle a laissé échapper le plasma. On voit ainsi clairement la diminution de résistance de l'enveloppe de l'arrière à l'avant. La partie condensée postérieure renferme parfois le noyau.

3. Amœba Penardi sp. n.

Dans un de mes flacons, renfermant des Elodea en abondance, j'ai rencontré sur les feuilles de cette plante une Amibe fort curieuse et paraissant fort rare que je n'ai pu identifier avec aucune espèce

décrite, bien que son aspect rappelle assez bien les figures qu'on a données de la Dinamœba mirabilis Leid. ou de la Mastigamœba aspera Schulz et qu'elle ne soit pas sans analogie avec la Dactylamœba elongata de Korotneff. Voici la description de cette nouvelle Amibe, que je suis heureux de pouvoir dédier à M. E. Penard, l'auteur du meilleur ouvrage d'ensemble paru jusqu'ici sur les Rhizopodes.

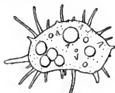


Fig. 6.

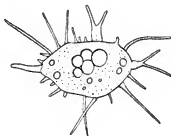


Fig. 7.

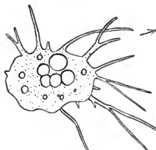


Fig. 8.

Fig. 6—8. Amœba Penardi sp. n.
6. L'Amibe contractée. — 7. L'Amibe se remettant en mouvement. — 8. L'Amibe en marche dans le sens de la flèche.

L'Amibe mesure une soixantaine de microns de longueur en moyenne. Elle est formée d'une masse principale peu mobile qui émet de toutes parts de nombreux pseudopodes assez minces, à peine plus larges en général à la base que vers l'extrémité, souvent aussi long que le corps proprement dit, arrondis à l'extrémité, et pouvant être simples ou bifurqués: dans ce dernier cas ils sont en général plus épais; ils sont peu actifs et leur croissance n'est guère marquée et ne se remarque que si l'on suit attentivement l'organisme; de plus ils sont capables de se balancer parfois dans le liquide, comme on l'a déjà observé pour d'autres Amibes, pour atteindre ainsi un support. Le mouvement de translation est extrêmement lent et peu marqué.

La masse principale est assez bombée et n'a guère de tendance à s'aplatir; elle est formée comme les pseudopodes d'un plasma non

transparent, légèrement bleuâtre, semé de granulations assez abondantes qui s'étendent jusque près des bords, laissant toutefois la partie distale des pseudopodes libre. Presque tous les exemplaires que j'ai vus renfermaient quelques grosses sphères et d'autres plus petites fortement réfringentes qui, lorsque je fis passer sous la lamelle une solution de OsO_4 prirent peu-à-peu une coloration brun-foncée; ces sphères avaient une tendance à se rassembler dans la partie antérieure de l'Amibe. En outre il y a quelques rares inclusions (Algues) et vacuoles. La vacuole contractile, unique, est assez petite et paresseuse, située en arrière. Le noyau est unique, petit, et renferme un nucléole compact.

Lorsque l'organisme progresse dans un sens donné, les prolongement de la partie postérieure disparaissent peu-à-peu ou se réduisent considérablement, tandis qu'au contraire ceux de la région antérieure se développent encore, s'élargissant un peu également. Il n'y a pas de houppe caudale.

Si l'on fait passer sous la lamelle, après un certain temps, un peu d'eau fraîche, l'Amibe se ramasse assez promptement sur elle-même, prenant une forme circulaire ou ovalaire ou réniforme, les pseudopodes se réduisant considérablement, et l'organisme acquérant ainsi un aspect hérissé, étant tout couvert de pseudopodes courts et grêles. Après quelques instants, les prolongements commencent à s'allonger du côté d'où arrive le courant, et peu-à-peu l'Amibe reprend sa forme première.

L'aspect général de A. Penardi permettra aisément de la reconnaître. Comme je l'ai dit elle rappelle parfois la Dinamœba mirabilis, mais s'en distingue déjà par l'absence des petites aspérités caractérisant le genre Dinamœba (qui ne me paraît d'ailleurs pas devoir être conservé). Elle a aussi une certaine ressemblance avec la Dactylamœba elongata Kor., mais s'en sépare notamment par la forme bien plus grêle des pseudopodes, la non différenciation en une partie antérieure dépourvue de granulations et une postérieure granuleuse, l'absence d'une houppe caudale. De Mastigamœba aspera Schulze, dont Cash a récemment publiés des dessins non sans analogie avec ceux que j'ai joints à cette notice, elle diffère par l'absence de flagel et des aspérités caractéristiques. Contractée, elle offre une grande analogie avec la Pelomyxa fragilis de Penard.

4. Amœba humilis sp. n.

J'ai également rencontré cette espèce en raclant des feuilles d'Elodea conservés depuis quelque temps dans un flacon. C'est

une Amibe extrêmement pâle, à peu près invisible, à tel point que je ne la découvris que grâce aux inclusions qu'elle renfermait et que je voyais se déplacer sous la lamelle. Je la retrouvai ensuite dans des préparations colorées au carmin boracique.

L'Amibe est donc transparente, à peine visible lorsqu'elle est en vie, hyaline, renfermant de fines granulations incolores ou très légèrement jaunâtres; elle est très légèrement teintée de jaune-verdâtre. Elle est extrêmement plate, à peine bombée sur le disque, et présente une large bordure d'ectoplasme dont la limite externe se devine à peine. Tout l'endoplasme est criblé de vacuoles, plus grandes en général vers le centre, réduisant fortement la quantité totale de plasma, et qui parfois sont suffisamment serrées les unes contre les autres pour prendre l'aspect alvéolaire. On y trouve en outre un certain nombre de corps ovalaires fort distincts — ce sont même ces corps qui m'ont fait découvrir pour la première fois cette Amibe —, brillants et sombres, à reflet jaunâtre correspondant évidemment aux Glanzkörper décrits chez d'autres Amibes. De plus on rencontre de rares vacuoles nutritives renfermant des Algues (Scenedesmus, Protococcales, etc.). Il n'y a qu'une seule vacuole contractile, assez grosse, voyageant dans le corps. Le noyau est également unique, volumineux eu égard à la forte vacuolisation du plasma; il présente une membrane assez distincte et un gros nucléole, dont la substance chromatique se rassemble en dehors, laissant le centre libre, se disposant en 5 arcs de cercle ou rarement en un anneau continu périphérique.

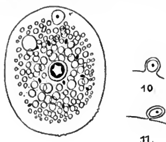


Fig. 9—11.
Amœba humilis sp. n.
9. L'Amibe à peu près immobile.
10—11. Phases successives de l'expulsion du corpuscule contenu dans la vacuole marquée ' sur la figure 9.

L'exemplaire représenté par la figure ci-jointe ne se déplaçait pour ainsi dire pas, et la bordure ectoplasmique est à peu près uniforme sur toute sa longueur; à l'arrière cependant le bord en est légèrement dentelé; cette bordure peut se plisser nettement lorsque le mouvement est plus rapide. Dans ce dernier cas, on distingue nettement dans le plasma un courant central, dans l'axe de la progression, décelé par le déplacement des corps brillants et des granulations; dans ce cas aussi, l'aspect de l'organisme se modifie un peu: en arrière en effet l'endoplasme pousse dans la bordure

ectoplasmique des prolongement coniques atteignant souvent le bord postérieur, et représentant évidemment la queue d'autres espèces; l'endoplasme prend souvent alors un contour plus ou moins pyriforme, se rétrécissant en arrière.

Cette Amibe mesure de 30 à 45 μ. Sa marche est lente: L'exemplaire le plus rapide que j'ai vu mettait 2′ 45″ à passer en entier sur une ligne du micromètre (sa longueur était de 45 μ).

J'ai eu l'occasion d'observer chez cette espèce un singulier phénomène: Une vacuole renfermant un granule résiduel se dirigea vers la périphérie, à travers l'ectoplasme, en prenant un aspect vaguement ovoïde (le gros bout en avant); puis, continuant son chemin elle fit peu-à-peu saillie à la surface en s'arrondissant, et quand elle eût ainsi passé en entier à l'extérieur, recouverte d'une couche d'ectoplasme, elle se pédiculisa de plus en plus et finit par se détacher, après allongement. Ces différents stades sont représentés ci-contre (la paroi de la vacuole a été figurée plus épaisse qu'en réalité). Ce phénomène de défécation, que je n'ai d'ailleurs pu voir qu'une seule fois, n'est pas sans analogie avec le „bourgeonnement" que Mereschkovsky décrit chez Amœba verrucosa.

II. Choanoflagellates.

5. Desmarella moniliformis Sav.-Kent.

Dans son „Manual of the Infusoria" Saville-Kent décrit et figure un Choanoflagellate qu'il désigne sous le nom de Desmarella[1]) moniliformis et qu'il a observé dans l'aquarium marin de la Zoological Society de Londres, dans celui de Birmingham et à Saint-Héliers dans l'île de Jersey. Dans le même genre se place le Codonodesmus phalanx de Stein, espèce habitant l'eau douce. Ces deux formes ne semblent plus avoir été retrouvées depuis leur description, et Saville-Kent lui-même paraît ne pas connaître de visu le D. phalanx. Cependant Francé dans son ouvrage „A Craspedomonadinák Szervezete" (et avant lui déjà Bütschli et Blochmann, qui font Desmarella synonyme de Hirmidium Perty) réunit sous un seul nom les deux formes, simplement parce

[1]) Quoi qu'en dise Francé, Saville-Kent donne parfaitement dans son Manual les raisons qui lui font indiquer Codonodesmus St. comme synonyme de Desmarella S.-K. et non le contraire: Desmarella a été décrit un quelques mots et figuré avant le publication du travail de Stein.

que Saville-Kent ne donne comme caractère différenciel que l'habitat de l'une dans l'eau de mer et de l'autre dans l'eau douce; Francé ne connaît d'ailleurs ce genre que par la description. Je ne puis me rallier à cette façon de voir, étant d'avis qu'il convient avant tout de comparer les deux espèces autrement que par leurs descriptions, qui sont peu satisfaisantes.

Ayant eu l'occasion de revoir l'espèce de Kent, Desmarella moniliformis, cette année pendant un séjour au Laboratoire maritime de zoologie du Portel[1]), dans le Pas-de-Calais, j'en ai profité pour en prendre la description et en faire à la chambre claire (Leitz) un dessin que je reproduis ici.

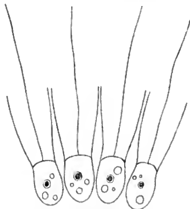


Fig. 12.
Une colonie de quatre individus de Desmarella moniliformis S.-Kent.

Le corps est en ovale plus ou moins large ou bien ovoïde, la base large se trouvant alors vers la collerette. Il est d'aspect réfringent, jaunâtre ou verdâtre, renfermant de deux à quatre vacuoles, dont une plus fixe dans la partie basale, en arrière du noyau. Ce dernier n'est pas très volumineux; il renferme un gros nucléole compact et est entouré d'une anréole claire. La collerette égale en longueur au moins une fois et demie la longueur du corps proprement dit; elle s'évase en général peu fortement de la base à l'apex et ses bords latéraux ne sont pas droits mais légèrement arqués en dehors; les lignes habituelles indiquant ces bords sont assez grosses et réfringentes à la base et s'amincissent assez graduellement jusque vers l'apex. Le flagel dépasse la collerette au moins de la longueur de celle-ci environ, mais je n'en ai pas vu qui la dépassât de plus de deux fois cette longueur; il se meut activement, tournant de gauche à droite en circonscrivant un cône renversé; ses mouvements sont plus accentués vers le haut de la collerette, où le cercle décrit s'élargit encore; parfois il semble que l'organisme donne de grands coups de flagel, tout en continuant à produire le même mouvement

[1]) Qu'il me soit permis de remercier ici M. le Professeur Hallez pour l'hospitalité qu'il m'a généreusement accordée dans son laboratoire du Portel.

gyratoire. La partie apicale du corps, à l'intérieur du cercle basal de la collerette est plus ou moins bombée, parfois légèrement relevée à la base du flagel. Les côtés sont légèrement sinués à la base de la collerette. On distingue parfois fort nettement une mince couche externe différenciée en membrane, sur toute la partie extra-collaire de l'organisme.

Les individus sont associés en colonies linéaires plus ou moins nombreuses, dans lesquelles j'en ai compté de deux à quinze (il est fort probable qu'on peut trouver des colonies encore plus grandes). Ces bandes apparaissent légèrement arquées lorsqu'on les voit de face, et il en est de même quand on les voit de haut, c'est-à-dire en regardant l'ouverture des collerettes: elles sont donc arquées dans deux sens différents. Une colonie de quatorze unités dessine à peu près un demi cercle, et sur une telle colonie on comprend mieux la disposition générale de ses composants: ceux-ci sont insérés obliquement l'un par rapport à l'autre (ce qui donne la ligne arquée lorsqu'on les voit de face) et également par rapport à la ligne réunissant leurs bases, ce qui fait que si on voit l'ensemble de la colonie exactement de dessus, on trouve tous les individus un peu inclinés en dehors et non pas perpendiculaires. Il est probable qu'on pourrait trouver des colonies formant un cercle à peu près complet, et qui auraient alors l'aspect d'une couronne à côtés inclinés en dehors.

Dans la chaîne les individus ne sont pas au contact, pas plus que leurs collerettes (celles-ci se touchent cependant parfois lorsqu'elles s'élargissent plus que ce n'est le cas habituel); ils semblent réunis entre eux par une sorte de gelée peu abondante et pour ainsi dire invisible sur le vivant.

Les colonies nagent assez rapidement dans le liquide, les flagels semblant battre de concert; le mouvement est assez irrégulier, les colonies changeant à tout moment de direction et d'orientation. Il est par suite fort difficile de les étudier et on n'y arrive que lorsqu'on rencontre une chaîne engagée par exemple dans un amas de détritus. Il m'a paru que les organismes pouvaient progresser aussi bien avec la collerette dirigée en avant qu'avec la collerette en arrière.

J'ai rencontré cet intéressant Choanoflagellate dans un récipient renfermant des Algues marines rejetées sur la plage au Portel par les vagues, spécialement des Ulva et Porphyra. Je n'y ai trouvé l'organisme que pendant un jour, en assez grand nombre, puis il a disparu et je n'ai pu le retrouver dans les diverses cultures tentées dans ce but.

6. Codosiga botrytis Ehr.

Dans sa monographie des Choanoflagellates citée plus haut „A Craspedomonadinák Szervezete“, Francé prétend que Codosiga botrytis ne présente qu'une seule vacuole contractile, contrairement à l'opinion de Bütschli et Stein, et que ce qu'on a considéré comme une deuxième vacuole n'a rien à voir avec cet organe et représente en réalité ce qu'il appelle une „Schlundvacuole“, c'est-à-dire la vacuole recevant le bol alimentaire amené par la collerette en oublie (théorie de Entz et Francé). De plus l'unique vacuole pulsatile serait située vers le tiers inférieur du corps, dans la partie centrale.

Ayant pu observer en abondance ce Choanoflagellate, j'ai donné une attention particulière à ce point de structure, car il eût été intéressant de vérifier l'existence du Schlund tel que le décrit l'auteur hongrois. Et de mes observations souvent répétées et continuées pendant de longues heures, je ne puis que conclure qu'il existe réellement deux vacuoles contractiles.

Ces vacuoles sont situées, comme le dit Francé, dans le tiers inférieur du corps, mais une de chaque côté et non centralement. Chacune d'elles se présentent à l'état de diastole complète comme une sphère pas fort grande mais cependant fort distincte, située latéralement, son bord externe presque tangent à la périphérie. Mais les deux vacuoles ne sont jamais dilatées en même temps: les pulsations alternent régulièrement. La pulsation de l'une d'elles n'a pas nécessairement lieu à égale distance de la systole et de la diastole complète de l'autre, ce dernier cas est même assez rare. Voici par exemple des chiffres pris sur deux individus fort favorables à cette étude: au moment de la contraction de la vacuole de gauche je note 1. et au moment de la contraction de celle de droite je note le nombre de secondes écoulées depuis 1, et ainsi de suite.

1r individu.

vac. gauche	1	
		Différence 25"
— droite	25	
		— 15"
— gauche	40	
		— 25"
— droite	65	
		— 15"
— gauche	80 etc.	

2[e] individu.

vac. gauche	1	
		Différence 30"
— droite	30	
		— 20"
— gauche	50	
		— 30"
— droite	80	
		— 20"
— gauche	100 etc.	

Dans le premier cas, une pulsation complète s'accomplit donc en 40 secondes, dans le second en cinquante et dans les deux cas l'intervalle séparant une contraction de la vacuole de droite de la contraction suivante de celle de gauche est plus court qué celui la séparant de la contraction précédente de cette même vacuole; comme je l'ai dit il est rare qu'on ait des intervalles égaux, 20" par exemple, entre les pulsations alternatives des deux vacuoles. Mais malgré cela il est un fait certain que les pulsations se continuent toujours dans le même rythme, ou avec des variations fort minimes; chaque vacuole se contracte toutes les 30 à 50 secondes suivant les individus étudiés.

Ce fait qu'il est aisé de vérifier sur un Codosiga bien portant et à vacuoles nettes, non cachées par d'autres inclusions, me paraît démontrer de la manière la plus évidente que la seconde vacuole contractile indiquée par Stein existe réellement et n'est pas une Schlundvacuole comme le décrit Francé. Ne serait-il pas invraisemblable d'admettre une telle régularité dans un acte tel que l'absorption des particules alimentaires? Puis comment admettre qu'à intervalles aussi réguliers, et aussi rapprochés surtout, l'organisme ait pu former une vacuole autour de nouvelles particules et l'amener jusqu'à la région inférieure du corps. Et s'il en était réellement ainsi il faudrait à intervalles répétés et presque sans interruption voir passer à la base de la collerette la fameuse vacuole de Bütschli, ce qui est loin d'être le cas; — et de même il faudrait qu'en peu de temps le corps soit bourré de vacuoles digestives, qu'il y ait défécation fréquente, ce que l'on ne peut observer non plus. Enfin, avec quelque attention on arrive à constater que les deux vacuoles se reconstituent, après la contraction, exactement de la même manière; comme l'a décrit Bütschli, on distingue d'abord quelques petites vacuoles disposées en ligne, qui se fusionnent en une vacuole unique allongée ou réniforme, qui peu-à-peu s'arrondit tout en augmentant de volume.

Comme Fisch l'a déjà dit, les vacuoles contractiles se vident à l'extérieur du corps. Essayant sur des Amibes la méthode à l'encre

de Chine récemment préconisée par Jennings pour déterminer si l'expulsion dn contenn des vacuoles contractiles se fait à l'extérieur ou à l'intérieur du corps, j'ai un jour rencontré dans une préparation faite suivant ce procédé nn exemplaire de Codosiga botrytis qui me montra nettement lors de la contraction des vacnoles la petite tache claire décelant l'émission à l'extérienr de leur contenu.

Les auteurs ont toujours vu le Codosiga botrytis, lorsqu'il s'est détaché de son pédoncule comme cela arrive parfois, nager avec la collerette en arrière, ce qui, comme le fait remarquer Bütschli, est en effet une disposition favorable à la natation. J'ai pu constater que si ce procédé est le plns général, on peut aussi voir parfois l'organisme se déplacer avec la collerette dirigée dans le sens de la progression et la base tournée en arrière; mais il est visible que ce mode de natation est plus difficile pour l'organisme: la progression se fait par saccades an lieu d'être continue comme dans l'autre cas; et si le Codosiga vient à rencontrer un obstacle, un Infusoire ou un Rotifère par exemple, on le voit recourir anssitôt à son deuxième mode de natation et s'éloigner rapidement avec la partie postérienre en avant.

En terminant je signalerai un point intéressant des récentes recherches de Cotte sur la nutrition chez les Spongiaires. Jusqu'ici les spongiologues avaient complètement négligé l'étude du mode d'absorption des particnles nutritives par les choanocytes, auxquels certains avaient même dénié tout rôle dans cette absorption. Les travaux de Cotte viennent démontrer que le choanocyte englobe les particules étrangères en émettant à sa surface libre, après résorption de la collerette, des pseudopodes courts et épais introduisant les particnles dans le corps même du choanocyte qui plus tard les transmettra aux cellules non vibratiles. Comme le fait remarquer Cotte, cette déconverte est un nouvel argument contre la théorie soutenue par James-Clark et Saville-Kent notamment, théorie qui rattache les Spongiaires directement aux Choanoflagellates et dont les adhérents se font d'ailleurs rares. Chez les Craspédomonadines en effet la collerette se conserve pendant l'absorption de la nourriture, à laquelle elle prend même nne part active dans la théorie Entz-Francé (théorie à laquelle j'adhère également), et la nutrition ne se fait normalement pas par l'intermédiaire de pseudopodes.

Weiteres über die Acanthometriden der Plankton-Expedition.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

Dr. **A. Popofsky** (Kiel).

(Hierzu Tafel XIV u. XV.)

Bei einer zweiten Durcharbeitung des Radiolarienmaterials der Plankton-Expedition in bezug auf die Acanthophraktiden ergaben sich auch einige weitere neue Resultate über die Acanthometriden, die als nicht unwesentliche Ergänzungen zu meiner kürzlich erschienenen eingehenden Arbeit über die Acanthometriden (Die Acantharia der Plankton-Expedition. Teil I: Acanthometra. Kiel 1904, auf die ich im Laufe dieser Arbeit des öfteren zu verweisen habe und die deshalb unter dem abgekürzten Titel: Acanthometra 1904 citiert werden soll) dienen können.

1. Zur Kenntnis der direkten Teilung der Acanthometriden.

Wie ich in meiner oben citierten Arbeit in hohem Grade wahrscheinlich machen konnte, findet bei einer Reihe von Acanthometriden — vornehmlich sind es die mit der sog. herzförmigen oder weinbeerkernförmigen centralen Stachelendigung — eine direkte Teilung statt und zwar so, daß etwa die gleiche Anzahl von Stacheln (und vielleicht auch nach vorheriger ungefähr gleichmäßiger Verteilung der Kerne auch die gleiche Anzahl Kerne) jedem einzelnen Teilungsstück, den von Haeckel zu einer Familie zusammengestellten Litholophuszuständen, verbleibt.

Befunde, wie ich sie auf Taf. III Fig. 1, 2, 7 in meiner angeführten Arbeit abbildete, sowie das Auftreten von Individuen der Spezies Acanthonia abcisa mit halbkugligem Weichkörper, wie ich solches häufiger beobachtete (Taf. XIV Fig. 1), brachten mich zu der Annahme, daß hier eine Zweiteilung wohl als wahrscheinlich anzunehmen sei.

Weiter beweisend schien mir zu sein, daß bei allen solchen Teilungsstadien der Spezies Amphilonche atlantica immer mindestens ein Hauptstachel vorhanden war, während Teilungsstadien ohne dieselben von derselben Form nicht konstatiert werden konnten. Da nun bei der Familie der Amphilonchen nur zwei Hauptstacheln vorhanden sind und Teilungsstadien nur einen davon aufwiesen, so lag der Schluß nahe, hier eine Zweiteilung anzunehmen.

Die Kombination dieser Amphilonchen-Zweiteilung mit einem leider nur zweimal angetroffenen Stadium eines Acanthometron bifidum, welches wahrscheinlich im Begriff war, in zwei Teilstücke zu zerfallen (vgl. Acanthometra 1904, Taf. III Fig. 7), und häufiger gefundenen Individuen von Acanthonia abcisa mit halbkugligem Weichkörper (wohl durch Teilung des ganzen kugelrunden Weichkörpers entstanden) führte dazu, den Acanthometriden, genauer, einer Reihe von Spezies derselben, eine zweite Art von Fortpflanzung neben der durch Schwärmerbildung zuzuschreiben, nämlich die durch direkte Zweiteilung.

Dadurch waren aber nun noch nicht die am häufigsten auftretenden Litholophus- oder Teilstadien erklärt, deren beide äußerste Stacheln einen rechten oder nur einen spitzen Winkel einschließen, deren Weichkörper einen Kegel oder einen Kugelsektor darstellt mit einem rechten oder spitzen Winkel an der Spitze, aus der die Stacheln ausstrahlen.

Man hätte, wenn man die Zweiteilung gelten lassen wollte, und dazu zwangen die Befunde (andere auf Mehrteilung deutende lagen noch nicht vor), annehmen müssen, daß nach vollendeter Teilung die halbkugligen Teilstücke sich zusammenzogen aus irgend welchen Gründen, und dadurch diese häufig auftretenden Stadien eines Kugelsektors mit spitzem Centriwinkel zum Vorschein kamen (z. B. Taf. XIV Fig. 3).

Diese Gründe konnten vielleicht hydrostatische sein, indem ein umgekehrter Trichter, der mit der Spitze nach oben flottiert (wie er durch diese Stadien dargestellt wird), leichter und stabiler im Wasser schwebt, als wenn das Teilstadium die Halbkugelgestalt nach der Teilung beibehielte.

Doch das sind nur Vermutungen, die wie überhaupt diese ganzen Weichkörper- nnd Fortpflanzungsstudien sich mit positiver Sicherheit erst durch intensive Beobachtung an lebendem Material zu Ende führen lassen, und möchte ich die Vervollständigung der diesbezüglichen Untersuchung dahingestellt sein lassen. bis mir solches zur Verfügung steht.

Betrachtet man die Teilzustände mit spitzem Winkel des Kugelsektors außerhalb des Rahmens der vorhin angegebenen Befunde, so drängt sich einem unwillkürlich die Annahme auf, daß hier ein Zerfall, eine Teilung eines Mutterorganismus in eine Reihe von Tochterindividuen stattgefunden hat, und zwar, da der Winkel des Kugelsektors ein spitzer Winkel ist, in mehr als 4 Teile (ein Zerfall der Weichkörperkugel in 4 oder 8 Teile würde ja Teilstücke mit rechtem Winkel an der Kegelspitze produzieren, falls sie alle untereinander gleich wären).

Dafür, daß nun tatsächlich eine Mehrteilung des Organismus eintreten kann, scheint mir folgendes zu sprechen (Taf. XIV Fig. 2).. Bei einer Acanthonia abcisa in ausgebildetem Zustande beobachtete ich, daß die Centralkapsel durch kleine Einschnürungen oder Einkerbungen am Rande abgeteilt erschien, nnd zwar lagen je zwei solcher benachbarter Kerbe etwa unter einem Winkel von 90° zueinander. Bei genauerer Untersuchung schien es mir, als wenn diese Kerben, diese Einsenkungen der Centralkapsel sich über die Kugel auch nach oben erstreckten und so die nach oben gekehrte Halbkugel in 4 Kugelsektoren abtrennten (Taf. XIV Fig. 2). Ob auch eine Trennung in Richtung des optischen Schnittes (also in der Zeichenebene, siehe Figur) angedeutet war, wie anzunehmen ist, war nicht erkenntlich.

Man könnte hier einwerfen. daß das beobachtete Individuum sich im Stadium der Schwärmerentwicklung befunden haben könnte, wo auch der Centralkapselinhalt eine Reihe von Teilstücken zeigt, die meist wurstförmige Gestalt besitzen und ein entfernt ähnliches Aussehen hervorrufen können. Ein solches lag jedoch hier sicher nicht vor.

Ein berechtigter Einwand ist jedoch der, daß die Stachelzahl, wenn eine Teilung in mehr als 4 Stücke eintritt, welche jedem Tochterindividuum (bei annähernd gleichmäßiger Verteilung der Stacheln) zukommt, nur eine sehr geringe sein kann.

Nehmen wir einmal nur 4 Teilstücke an, so kämen von den 20 Stacheln des Mutterorganismus, die dort konstant vorhanden sind, auf jedes Teilstück 5. Solche geringe Stachelzahlen konnten

jedoch bisher in keinem Falle von mir (und auch von anderen) festgestellt werden. Die geringste Stachelanzahl, die ich bei Teilstadien der Acanthometriden antraf, war 8, von hier an aufwärts bis zu 20 war dann fast jede Zahl vertreten.

Tritt nun wirklich eine Mehrteilung ein, wofür die Gestalt der meisten Teilindividuen (mit spitzem Centriwinkel des Kugelsektors) und der eben angezogene Befund (Taf. XIV Fig. 2) spricht, so muß man annehmen, daß die Stachelzahl, zu Anfang wenigstens, sehr schnell vergrößert wird, weil ja Stadien mit so geringer Stachelanzahl, wie sie dem Tochterindividuum vom Mutterorganismus übermittelt wird, bisher nicht gefunden worden sind.

Die Frage steht also jetzt so: Die Befunde und ihre Diskussion deuten wahrscheinlich darauf hin, daß bei Amphilonchen, die sich durch direkte Teilung fortpflanzen können, nur Zweiteilung, bei Vertretern des Genus Acanthonia dagegen (Acanthonia abcisa) Zwei- (Vier-) und Mehrteilung eintreten kann.

Eine Reihe von Tatsachen scheint auch dafür zu sprechen, daß die nach der Teilung vorhandenen, vom Mutterorganismus überkommenen Stacheln vermehrt werden, d. h. so viel neue gebildet werden, bis die erbliche Zahl 20 erreicht ist.

Zunächst finden sich alle möglichen Stachelzahlen, wie schon vorn einmal bemerkt, von 8 an aufwärts bis zu 20, und zwar die geringen Stachelzahlen weniger häufig (8—14), die höheren Zahlen häufiger (14—20). Schon von Haeckel, der alle diese Teilungsstadien zu einer Familie Litholophida zusammenfaßte, wurden solche Individuen gefunden, die von 10 bis zu 20 Stacheln besaßen. Er sagt darüber: (Chall. Rep. Zoology, Vol. XVIII, First Part. p. 734): The number and disposition of the radial spines (bei den Litholophida) seem to be variable and irregular but require further researches. In four of the observed eight species I found constantly ten spines, in two other species from ten to twenty (commonly twelve or sixteen) and in two species twenty or more . . .

Afterwards, observing many specimens with ten spines, I was led to the suggestion that they were produced by self — division of an Acanthonia and that the number of the spines in each half of the body might be afterwards doubled. But these suggestion seems to be refused . . .

Mehr als 20 Stacheln (wie Haeckel es andeutet) konnte ich in keinem einzigen Falle feststellen, ebensowenig, wie auch schon Haeckel, eine Gesetzmäßigkeit in der Stellung derselben.

Weiter sprechen für eine Stachelneubildung folgende Befunde. Dreimal konnte ich beobachten, daß bei stachelneubidenden Teilindividuen (Acanthonia abcisa und Acanthonia spinifera) sich eine Anzahl Stacheln fand, die weniger gut ausgebildet war wie die übrigen. Sie erschienen kürzer, nicht so breit, die Flügel der vierflügligen Stacheln sehr dünn und weniger stark lichtbrechend als die anderen Stacheln (vgl. Taf. XIV Fig. 3). Ich stehe nicht an, diese Stacheln für „jüngere" neugebildete, die konsistenteren längeren, breiteren und verhältnismäßig stark lichtbrechenden Stacheln dagegen, die einen vollkommen ausgebildeten Eindruck machten, für „alte" Stacheln zu erklären, die vom Mutterorganismus bei der Teilung mit übernommen wurden.

In allen diesen drei Fällen, die sich auf Acanthonia abcisa und Acanthonia spinifera beziehen, verhielt sich die Zahl der „regenerierten" Stacheln zu den „alten" wie folgt:

	Gesamtst.-Zahl	Alte Stacheln	Nene Stacheln
1. Acanthonia abcisa	16	10	6
2. „ „	18	12	6
3. Acanthonia spinifera	14	11	3

Diese Zahlenverhältnisse würden ja wieder für eine Zweiteilung sprechen. Allerdings muß ich auch bemerken, daß ich solches nur in diesen drei Fällen beobachtete.

Bei zwei dieser Organismen waren die neugebildeten Stacheln von feinkörnigem Plasma der ganzen Länge nach überzogen, die anderen, alten Stacheln zeigten das nicht (Taf. XIV Fig. 3). Es ist wohl denkbar, daß das Plasma, welches jetzt noch die neuen Stacheln umgibt, dieselben erst gebildet hat und weiter durch Stachelsubstanzausscheidung vergrößert. Immerhin ist es nicht unmöglich, daß das Protoplasma durch irgend welchen Druck oder andere mechanische Einflüsse (Deckglasdruck) an den Stacheln entlang gepreßt sein und nur zufällig an den neuen Stacheln angelagert erscheinen. Ich messe daher diesem Befund weniger Bedeutung bei, zumal die beiden Belegstücke lange Jahre (14) in Alkohol gelegen haben.

Verschiedene Male beobachtete ich auch im Centrum, dem centralen Stachelvereinigungspunkt von Teilzuständen, einige Stachelstümpfe, und zwar auf der dem Stachelkegel entgegengesetzten Seite, doch war nicht zu entscheiden, ob Anlagen neuer Stacheln vorlagen war oder abgebrochene „alte" Stacheln, da der Weichkörper zu dunkel und, weil das Präparat eingeschlossen, nicht entfernt werden konnte.

Wenn sich wirklich eine Stachelneubildung bei den Teilstadien vollzieht, so ist sie jedenfalls vollendet, bevor der Weichkörper die

Kugelform angenommen hat, d. h. der ursprüngliche Kugelsektor sich zur Weichkörperkugel umgestaltet hat, wie wir sie bei den meisten Acanthometriden mit gleichlangen Stacheln antreffen. Alle Acanthonia abcisa z. B., deren Weichkörper kuglig war, besaßen schon die erbliche Anzahl von 20 Stacheln, falls diese nun (und ein Teil müßte das ja nach der Annahme) von Teilstadien sich zu vollständigen Organismen regeneriert haben, so muß das geschehen sein, während der Weichkörper noch nicht kuglig war.

Litholophusstadien in fortpflanzungsreifem Zustande, d. h. mit Schwärmeranlagen, konnten von mir in keinem Falle festgestellt werden.

Dagegen fand ich eine vollständige Acanthonia abcisa, die sich in einem frühen Stadium der Bildung von Schwärmeranlagen befand, die analog den Acanthometriden, bei denen diese Fortpflanzung näher bekannt ist, zu wurstförmigen Schwärmeranlagenklumpen zusammengeballt waren. Leider ist mir das Exemplar bei der Weiterbehandlung zerdrückt worden, so daß ich eine Abbildung davon nicht geben konnte. Damit ist nun auch den durch Teilung sich fortpflanzenden Acanthometriden eine Vermehrung durch Schwärmer zuzuschreiben, und es gewinnt der Gedanke an Wahrscheinlichkeit, daß bei diesen Formen ein Wechsel zwischen ungeschlechtlicher (Teilung) und geschlechtlicher Fortpflanzung (Schwärmerbildung) statt hat.

Obgleich Studien über Weichkörperstrukturen unbedingt an lebendem Material zu machen sind, möchte ich nicht versäumen, eine Schilderung des Weichkörpers der Teilstücke zu geben, wie er sich in konserviertem Zustande darbietet (Taf. XIV Fig. 3). Von dem Treffpunkt der herzförmigen, proximalen Stachelbasen an der Spitze des Kegels ausgehend, kann man etwa 4—5 Schichten unterscheiden.

I. Das Endoplasma mit vielen kleinen Kernen (gelben Zellen) und feinkörniger Struktur. Sehr dicht erscheinend (ohne Vakuolen) und dunkler als alle anderen Schichten.

II. Eine dünne, gänzlich farblose, hyaline, lichtbrechende Schicht (Ersatz oder aufgequollene Centralkapselmembran?).

III. Hyaline, gallertig aussehende, wenig grau erscheinende Schicht am äußeren Rande (nach dem distalen Stachelende zu) mit wenigen Körnchen.

IV. Körnerplasma mit dichten Körnchenanhäufungen, nach außen zu weniger dicht und allmählich in die folgende Schicht übergehend.

V. Körnchen breit verteilt, wirre Fadenschlingen (eingezogene

Pseudopodien und ektoplasmatisches Maschengerüst) mit undeutlichen Begrenzungslinien.

Rückschlüsse aus dieser Weichkörperverteilung im konservierten Zustande auf den lebenden Organismus zu machen, möchte ich unterlassen, da man leicht irregeführt werden könnte.

Auf eine Weichkörpereigentümlichkeit der Acanthonia abcisa sei hier noch aufmerksam gemacht, die mir ein wertvolles Hilfsmittel war zur Identifikation der Teilstücke mit vollständigen Organismen. Es ist dies die Beschaffenheit der Gallertcilien (= Myophrisken, Myoneme), jener kontraktilen Elemente, die durch Kontraktion oder Erschlaffen eine Oberflächenvergrößerung oder Verringerung herbeiführen und hauptsächlich dadurch das Tier instand setzen, selbsttätig im Wasser zu steigen oder zu sinken. Dieselben sind gerade bei dieser Form sehr groß und gut ausgebildet, größer als bei allen anderen Acanthometriden, die mir zu Gesicht kamen. In kontrahiertem Zustande (in dem sie sich an konserviertem Material gewöhnlich befinden) waren sie breit rechteckig oder gar quadratisch (Taf. XIV Fig. 4) bandförmig.

2. Systematisches.

Die Trennung der Teilstadientypen in eine ganze Reihe von Arten, wie sie Haeckel in seinem Radiolariensystem im Challenger-Report durchführte (Familie Litholophida mit 8 Arten) schien mir nicht zulässig, und versuchte ich daher, die Formen in meinem revidierten System der Acanthometriden so viel als möglich zusammenzufassen. Damals hatte ich jedoch nicht so viel einschlägiges Material zur Verfügung, um dies in ausreichendem Maße durchführen zu können, und habe ich daher hier noch einiges Neue anzuführen, anderes zu berichtigen.

Alle Teilstadien, die ich beobachtete, ließen sich völlig einordnen in folgende 8 Typen:

1. Alle Stacheln rund, Querschnitt kreisförmig, gleichlang und gleichgestaltet = *Acanthometron bifidum.*
2. Alle Stacheln vierflüglig, gleichlang, gleichgestaltet, ohne Zähne = *Acanthonia abcisa*
   " *pyramidalis*
   " *decimalis*
   " *ligurina*
   " *fascicula.*

3. Alle Stacheln vierflüglig, gleichlang, gleichgestaltet, zwei gegenüberstehende Flügel weit gezähnt, die beiden dazu senkrechten nicht. Neuer, bisher nicht bekannter Typus
= *Acanthonia spinifera n. sp.*
(Vgl. Taf. XIV Fig. 3, 3a nnd p. 351.)
4. Alle Stacheln vierflüglig, gleichlang, gleichgestaltet, alle vier Flügel weit gezähnt = *Acanthonia fragilis*
„ *decastylus*
„ *rhipidium.*
5. Alle Stacheln vierflüglig, gleichlang, gleichgestaltet, alle vier Flügel eng gezähnt = *Acanthonia Muelleri*
„ *decapristis.*
6. Alle Stacheln vierflüglig, zwei Hauptstacheln länger, anders gestaltet als die kürzeren dünneren Nebenstacheln. Flügel mit glatten Kanten. Nener Typus. Nur als Teilstadium bekannt
= *Amphilonche variabilis n. sp.*
7. Zwei Hauptstacheln vierflüglig, länger und breiter als die zweischneidigen Nebenstacheln. Flügelkanten glatt
= *Amphilonche atlantica.*
8. Zwei Hauptstacheln vierflüglig, länger nnd breiter als die ebenfalls vierflügligen Nebenstacheln, Kanten der Hauptstachelflügel glatt, der Nebenstachelflügel dicht gezähnt. Nur Teilstadium bekannt = *Amphilonche biformis.*

Zu Typus 2 ist folgendes zu bemerken. Alle 5 dahinzustellende Formen fasse ich nach meinen Beobachtungen als einen zusammengehörigen Formenkreis auf, zu dem Acanthonia abcisa den vollständigen ungeteilten Organismus darstellt, während die anderen vier von Haeckel aufgestellten (A. pyramidalis, A. decimalis, A. ligurina, A. fascicula) Teilstadien jener Acanthonia abcisa sind, die mit dieser und untereinander identifiziert werden müssen und zwar aus folgenden Gründen:

1. Sie weichen voneinander ab nur in ganz geringen Stachelmodifikationen (vgl. Chall.-Rep. H. 87 p. 735—736).

2. Unterschiede im Weichkörper (Pigment z. B.) wurden von Haeckel nicht konstatiert und angegeben.

3. Stimmen die Maße über Stachellänge und Breite fast völlig überein bei sämtlichen vier Spezies (nämlich Stacheln lang 0,2—0,5, breit an der breitesten Stelle 0,006—0,008).

Es scheint mir, als ob Haeckel nur verschiedene Individuen aus verschiedenen Gebieten des Ozeans beschrieben hat, und haupt-

sächlich durch die verschiedene Stachelzahl (die er auch zur Einteilung des Genus Litholophus in Subgenera benutzt) dazu geführt wurde, diese identischen Formen in mehrere Arten zu spalten. So gibt er für A. pyramidalis und A. decimalis 10 Stacheln, für A ligurina 11—20, gewöhnlich 12—16 Stacheln, und für A. fascicula immer 20 Stacheln an. Da nun aber die Stachelzahl als Unterscheidungsmerkmal, wie wir gesehen haben, nicht zu gebrauchen ist, weil sie (wie auch schon Haeckel für A. ligurina im besonderen und allgemein für seine Litholophus angibt) bei derselben Form variabel ist, andere durchgreifende Unterschiede, wie ich aufgezeigt habe, aber zwischen den einzelnen Formen nicht bestehen, so stehe ich nicht an, alle diese von Haeckel beschriebenen Arten, Litholophus (in meinem revidierten System, wie auch im Text bisher mit Acanthonia bezeichnet) pyramidalis, L. decimalis, L. ligurina, L. fascicula, als Teilungsstadien ein- und derselben Form Acanthonia abcisa (Taf. XIV Fig. 4) zu deuten. Alle diese Formen also zu kassieren und ist ihr Name durch den letztgenannten zu ersetzen. Leider gibt Haeckel keine Abbildungen zu seinen Speziesdiagnosen der genannten Formen (was ja bei der monumentalen Arbeit [Chall.-Rep.] auch nicht durchgehend geschehen konnte), sonst würde sich der Beweis für die Identität mit Leichtigkeit erbringen lassen.

Der dritte Typus war bisher noch nicht bekannt, und ist es mir auch noch nicht gelungen, den vollständigen Organismus dazu zu finden. Das Teilstadium wurde von mir schon früher beobachtet, wegen der ungünstigen Lage (man sah bei dem Individuum stets in den Winkel zwischen zwei Flügeln) wurde damals übersehen, daß nur zwei, nicht vier Flügel gezähnt waren. Die Abbildung, welche ich daher (Acanthometra 1904, Taf. III Fig. 8) gab, ist insofern nicht ganz zutreffend, als nur zwei von den vier Flügeln (wie es im Präparat den Anschein hatte) gezähnt gezeichnet werden mußten. Die Identifikation des dort abgebildeten Individuums als Litholophus decastylus und als Teilstück von Acanthonia fragilis ist also aufzuheben und selbiges mit zu diesem dritten Typus, zu Acanthonia spinifera, zu stellen (Taf. XIV Fig. 3, siehe auch hinten p. 351).

Zum vierten Typus (Acanthonia fragilis, A. decastylus, A. rhipidium, A. penicillus) ist ähnliches zu sagen, wie beim Typus 2 ausführlicher erörtert wurde. Auch hier ist die Trennung der nur einen Formenkreis, eine Art darstellenden drei Haeckel'schen Spezies Litholophus decastylus, L. rhipidium, L. penicillus nur bedingt durch das Einteilungsprinzip, die variable Stachelzahl (der erste soll nach

Haeckel stets 10, der zweite 11—20, meist 12—16, der letzte stets 20 [oder mehr?] Stacheln besitzen). Wie schon öfter betont, wechselt ja die Stachelzahl an demselben Individuum (soweit bis jetzt bekannt). Da nun die Unterschiede im Skelettbau, in der Stachelbeschaffenheit äußerst gering sind (vgl. H. 87 Chall.-Rep. p. 735—736) und die Maße auch hier wieder gut übereinstimmen, so möchte ich auch diese drei Formen als Teilstadien von Acanthonia fragilis deuten und sie damit identifizieren. Also: Acanthonia fragilis H. = Acanthonia (Litholophus) decastylus, A. rhipidium, A. penicillus.

Es sei hier noch hingewiesen auf die Abbildungen von Acanthonia (Litholophus) fragilis und (Litholophus) Acanthonia rhipidium in Haeckel's Radiolarienmonographie 1862, Taf. XV Fig. 4 und Taf. XIX Fig. 6, in denen die große Ähnlichkeit zwischen Teilstadium und vollständigem Organismus deutlich hervortritt, wenn auch das Pigment bei den Teilstadien heller, beim vollständigen Organismus dunkelbraun erscheint.

Zum Typus 5, 7 u. 8 ist weiter nichts zu bemerken, als daß für 5 (Acanthonia Muelleri = Acanthonia decapristis) die Identifikation schon in meiner Arbeit (Acanthometra 1904) durchgeführt wurde, und daß für die Teilstadien von Typus 8 der vollständige Organismus noch nicht festgestellt werden konnte.

Der Typus 6 ist neu (Amphilonche variabilis, Taf. XV Fig. 9), der vollständige Organismus dazu ist auch nicht bekannt.

Nach diesen Erörterungen würde also, so weit bisher bekannt, folgenden 8 Spezies der Acanthometriden (neben der Fortpflanzung durch Schwärmerbildung) eine Fortpflanzung durch Zwei- eventuell Mehrteilung zukommen:

1. Acanthometron bifidum H.
2. Acanthonia abcisa Pop.
3. „ spinifera n. sp.
4. „ fragilis H.
5. „ Muelleri H.
6. Amphilonche variabilis n. sp.
7. „ atlantica Pop.
8. „ biformis Pop.

Allen 8 Formen ist außer dieser Fortpflanzung durch Teilung noch durchgehend gemeinsam die basale herzförmige Stachelendigung, und umgekehrt sind von fast allen Acanthometriden, die eine solche proximale Stachelendigung zeigen, Teilstadien bekannt. Es scheint also angebracht, diese Formen, die sich so wesentlich durch die

einfache Art der Fortpflanzung durch Teilung und die eigentümliche herzförmige Stachelbasis auszeichnen, als gesonderte Familie von den übrigen Acanthometriden, denen diese Eigentümlichkeiten fehlen, zu trennen und sie ihnen gegenüberzustellen. Ich halte jedoch die ganze Frage noch für zu wenig geklärt, noch zu wenig durch Beweismaterial erhärtet, daß ich einen solchen Schritt verantworten könnte.

Wäre das geschehen, so wären sie im System als phylogenetisch ältere aufzufassen, die, denen die Fortpflanzung durch Teilung fehlt, als stammesgeschichtlich jüngere. Oder man kann beide betrachten als Zweige aus einem Stamm, einem Grundtypus, von denen der eine Zweig, der mit direktem Teilungsvermögen, ursprüngliche Eigenschaften des Grundtypus besser und fester erhalten hat als der andere.

Nach dem jetzigen Stande der Wissenschaft ist nun auch mit ziemlicher Gewißheit zu sagen, daß die angezogenen 8 Formen auch keine phylogenetische Weiterentwicklung zu Acanthophraktiden erfahren haben. Denn Acanthophraktiden, d. h. gitterschalige Acantharien, die in Teilstücke zerfallen können, sind bisher noch nicht konstatiert und auch von mir nicht gefunden bei der Durcharbeitung des diesbezüglichen Materials der Plankton-Expedition. Infolge der komplizierteren Ausbildung des Skeletts erscheint ja auch eine Fortpflanzung durch Teilung so gut wie ausgeschlossen. Außerdem sind auch keine Acanthophraktiden gefunden worden, deren centrale Stachelbasen jene charakteristische herzförmige Ausbildung erkennen ließen.

Die Haeckel'schen Genera Actinelius und Astrolophus, im revidierten System zur Familie Astrolophidae zusammengefaßt, haben mit den Acanthometriden recht wenig Zusammenhang. Erstens die variable, hohe Stachelanzahl, zweitens die nicht glatte Oberfläche der Stacheln (meist finden sich auf den keulenförmigen Stacheln unregelmäßige Erhebungen und Leisten von geringen Dimensionen), ferner drittens ein geringeres Lichtbrechungsvermögen der Stachelsubstanz, unterscheiden die zu der Familie Astrolophidae gehörigen Organismen sehr wesentlich von den eigentlichen übrigen Acanthometriden. An einen phylogenetischen Zusammenhang zwischen ersteren und letzteren zu denken (wie Haeckel ihn konstruiert) ist daher auch völlig ausgeschlossen. Ihren Platz im System der Acanthometriden verdanken sie wohl lediglich der Definition der Acantharien, welche (wohl zufällig) auch für sie gilt: Centralkapselmembran und

centrogenes Skelett vorhanden. Versuche über die Stachellöslichkeit dieser Astrolophidae, die bisher noch nicht angestellt sind, werden vielleicht auch auf eine andere Stachelsubstanz deuten als „Acanthin“ und somit die Gruppe von den Acanthometriden ausschließen.

Da mir dazu kein Material zur Verfügung steht, so sei hier nur darauf aufmerksam gemacht. Einstweilen ist die Gruppe natürlich an ihrer Stelle im System der Radiolarien zu belassen.

Auf einen Organismus sei hier noch hingewiesen, der meines Wissens noch nicht beschrieben ist und leicht mit Actinelius verwechselt werden kann (Taf. XIV Fig. 5, 5a).

Die Stacheln entstehen auch hier anscheinend im Centrum des Weichkörpers, sie sind von keulenförmiger Gestalt und zeigen eine etwas unregelmäßige Oberfläche. Der Querschnitt der Stacheln ist rund, Spitze abgerundet. Die Stacheln liegen innerhalb des Weichkörpers oder ragen nur wenig darüber hinaus. Zahl derselben 120 bis 140. Die Gesamtheit der Stacheln bildet anscheinend ein Rotationsellipsoid, ebenso der Weichkörper. Im Weichkörper glaubte ich im Körnerplasma eine große Anzahl kleiner Kerne zu erkennen (Taf. XIV Fig. 5a). Centralkapselmembran nicht sichtbar, ebenso keine Trennung von Ekto- und Entoplasma erkennbar (doch kann ersteres auch durch Fang und Konservierung verloren gegangen sein). Außerhalb des Weichkörpers, diesem meist dicht aufliegend, findet sich eine äußerst zarte, dünne Gitterschale, aus 5- oder 6eckigen feinen Maschen bestehend, die mit den Stacheln in keinerlei Verbindung steht. Das Lichtbrechungsvermögen der Skelettsubstanz ist verhältnismäßig schwach (jedenfalls nicht so stark wie das des Acanthins). Stachellösungsversuche konnte ich leider nicht anstellen, um einen Schluß auf die Zusammensetzung der Skelettsubstanz machen zu können, da die vorliegenden drei Exemplare sämtlich in Kanadabalsam eingeschlossen sind. Vielleicht besteht selbige, nach Lichtbrechung, Farbe und Art der Ausscheidung zu urteilen, aus Kieselsäure. Ich muß mich daher mit diesen dürftigen Angaben begnügen und vorläufig die systematische Stellung noch völlig ungeklärt lassen. Nach dem Vorschlage von Lohmann [1904, Eier und sogenannte Cysten. in: Ergebnisse d. Plankton-Expedition d. Humboldstiftung Bd. IV N. p. 24] wären solche, ihrer Natur nach noch unbekannte Organismen mit Bion und, da hier die Tiernatur erkannt wurde, mit Zoobion zu bezeichnen. Ich schlage also für den Organismus vorläufig den Namen Zoobion polyacanthum vor.

Die Größenverhältnisse von Zoobion polyacanthum sind folgende: Länge der Stacheln 0,076, Breite an der Spitze der Keulen-

stacheln 0,013. Längsdurchmesser der Gitterschale 0,20, Querdurchmesser 0,14.

Vorkommen: Atlantischer Ozean, Pl.-Exp., Südäquatorialstrom, 5.1° S., 14,1° W. (Pl. 81), 6,8° S., 14.2° W. (Pl. 83), 3,8° S., 32,6° W. (Pl. 95).

Sollte trotzdem Zoobion polyacanthium schon bekannt sein, so können obige Angaben und Zeichnung (Taf. XIV, Fig. 5, 5 a) als Ergänzung dienen; hier wurde es hauptsächlich aufgeführt, weil bei dem intakten Organismus leicht die Gitterschale übersehen wird, und es dann mit Actinelius verwechselt werden kann (was vielleicht auch geschehen ist). Noch leichter kann das vorkommen, wenn die Gitterschale, wie ich es an einem Exemplar beobachtete, verloren gegangen ist, das Tier macht dann direkt den Eindruck eines etwas gequetschten Actinelius.

Bei der ernenten Durchsicht des Materiales ergaben sich auch eine Reihe seltenerer neuer Spezies, die im folgenden mitgeteilt werden sollen.

1. *Acanthochiasma solidissima n. sp.*
(Taf. XIV Fig. 6.)

Sehr kleine Form, die im System der Acanthometriden dem Genus Acanthochiasma, Subgenus Acanthochiasmidium einzuverleiben ist. Nahe verwandt mit Acanthochiasma plana Pop., vor welche sie auch im System zu stellen wäre.

Alle zehn Diametralstacheln komprimiert, zweischneidig, gleichbreit, an den beiden Enden zugespitzt. Am ausgebildeten Organismus bildet sich um die zentralen Stachelteile eine Acanthinhülle, die zu einem unregelmäßigen festen Zentralstück wird, welches die Stacheln zusammenhält und meist den zentralen Durchgang der Diametralstacheln noch erkennen läßt. Weichkörper kuglig.

Maße: Länge der Diametralstacheln (von einem zum anderen spitzen Ende) 0,062. Breite 0,002.

Vorkommen: Atlantischer Ozean. Pl.-Exp., Südäquatorialstrom, 4,4° S., 29,2° W. (Pl. 92.)

2. *Acanthonia spinifera n. sp.*
(Taf. XIV Fig. 3, 3 a.)

Im System zum Genus Acanthonia, Subgenus Acanthonia hinter Acanthonia fragilis zu stellen, mit der sie nahe verwandt ist.

Von dieser Form bisher nur Teilstadien bekannt. Stacheln sehr lang vierflüglig mit dünnen schwachen Flügeln. Zwei gegenüberstehende Flügel weit gezähnt, die dazu senkrechten anderen beiden Flügel mit glatten Kanten. Richtnng der Zähne proximaldistal. Basale Stachelendigung herzförmig oder weinbeerkernförmig. Stacheln vom proximalen Ende allmählich an Breite zunehmend, so daß sie am breitesten am distalen abgestumpften oder abgebrochenen Ende sind. Über Weichkörper in konserviertem Zustand siehe vorn p. 344. Gallertcilien nicht so breit wie bei Acanthonia abcisa.

Wie es erscheint, werden hier die beiden gesägten Flügel später angelegt, als die beiden glatten; ich schließe das darans, daß letztere weniger lichtbrechend erscheinen, (blänlich) gegenüber den konsistenteren ersteren. Ähnliches, daß bei vierflügligen Stacheln zwei Flügel eher angelegt werden als die dazu senkrechten anderen beiden, erwähnte ich schon in meiner nmfassenden Acanthometridenarbeit. [1904, Acanthometra p. 10.]

Maße: Länge der Stacheln 0,85—1,0. Breite am distalen Ende 0,01—0,02.

Vorkommen: Atlantischer Ozean. Pl.-Exp., Nordäquatorialstrom, 10,2° N., 22,2° W. (J. N. 150.) Südäquatorialstrom, 1,5° S., 39,2° W. (Pl. 102.)

3. *Acanthonidium longispinum n. sp.*

(Taf. XV Fig. 7.)

Einzuordnen in das Genus Acanthonidium, Subgenus Acanthonidium, hinter Acanthonidium cuspidatnm, mit welchem es nahe verwandt ist.

Stacheln breit vierflüglig, pyramidal, mit großem Blätterkrenz an der Basis. Hinter dem innersten proximalen Drittel sind die Flügel sattelförmig eingeschnürt, die äußeren $^2/_3$ des Stachels bilden dann eine vierschneidige Lanze. In der Einsenkung der Flügel ist die Centralkapselmembran inseriert. Weichkörper kuglig.

Die Stachelform hat sehr viel Ähnlichkeit mit der von Acanthonia quadrangula, wie sie Haeckel diagnostiziert. Nur ist bei A. longispinum ein Blätterkreuz vorhanden, bei A. quadrangnla nicht. Dort sind die Stacheln vierflüglig, hier nur vierkantig.

Maße: Stacheln lang 0,265, größte Breite 0,015.

Vorkommen: Atlantischer Ozean. Pl.-Exp., Südäquatorialstrom, 4,4° S., 29,2° W. (Pl. 92.)

4. *Acanthonidium Henseni n. sp.*

(Taf. XV Fig. 8.)

Interessante Form zum Subgenus Stellacantha des Genus Acanthonidium zu stellen.

Vier Hauptstacheln breit vierflüglig, pyramidal, allmählich abnehmend von der Basis, welche die größte Stachelbreite besitzt, bis zur einfachen Spitze. Hauptstacheln ähnlich den Stacheln von Acanthonidium cuspidatum oder A. diplopyramis. Nebenstacheln ebenso lang oder länger wie die Hauptstacheln aber komprimiert, jedoch nicht zweischneidig. Alle Stacheln mit basalem Blätterkreuz. Weichkörper polsterförmig, viereckig.

Maße: Hauptstacheln lang 0,09, größte Breite 0,009. Nebenstacheln 0,07—0,10, breit 0,002.

Vorkommen: Atlantischer Ozean. Pl.-Exp., Nordäquatorialstrom 10,2° N., 22,2° W. (J. N. 150.)

5. *Amphilonche variabilis n. sp.*

(Taf. XV Fig. 9.)

Zu Amphilonche biformis Pop. im Subgenus Acantholonche, Genus Amphilonche zu stellen. Bisher nur Teilstadien bekannt.

Hauptstacheln breit vierflüglig, allmählich von der dünnen herzförmigen Basis nach dem distalen Drittel zu verbreitert. Im letzten Drittel in eine einfache Spitze auslaufend (Hauptstacheln genau wie bei Amphilonche atlantica, vgl. Taf. XV Fig. 11). Nebenstacheln vierflüglig mit sehr dünnen Flügeln und herzförmiger Basalendigung. Nebenstacheln entweder gleich breit bleibend oder gegen das distale Ende allmählich breiter werdend. Distale Spitze abgeschnitten. (Nebenstacheln von derselben Gestalt wie die Stacheln von Acanthonia abcisa, vgl. Taf. XIV Fig. 1, 2, 4).

A. variabilis ist leicht mit A. atlantica zu verwechseln, da die Flügel der Nebenstacheln bei ersterer sehr dünn sind und leicht zweischneidige Stacheln vortäuschen, wie sie bei letzterer sich finden.

Maße: Länge und Hauptstacheln 0,216, größte Breite 0,01. Länge der Nebenstacheln 0,15, breit am basalen Ende 0,005, am distalen Ende 0,056.

Vorkommen: Atlantischer Ozean. Südäquatorialstrom, Pl.-Exp., 6,8° S., 14,2° W. (J. N. 196.)

Soweit die neuen Formen. Hier sei noch eine Art angeführt und abgebildet, die ich wohl mit Haeckel's Acanthonia stellata identifizieren möchte, obwohl die Maße nur halb so groß sind, und die Diagnose anch nicht genau übereinstimmt mit dem Befund. Es ist durchaus nicht immer so leicht die Identifikation dnrchznführen, zumal Haeckel, wie das bei dem Umfang der Arbeit (Challenger-Report, Radiolaria) nicht anders möglich war, von den meisten neu anfgestellten Radiolarienspezies nur eine kurz skizzierte Diagnose gibt, bei der die Variationsbreite der Spezies in keinem Fall berücksicht ist und Zeichnungen, die erst ein exaktes Bestimmen möglich machen, meist nicht gibt. Es ist daher mein Bestreben gewesen, möglichst viel von diesen einzeln dastehenden Formen zueinander und zn Formen meines Materiales innerhalb des Spielraumes, welches der Varitationsbreite zuzuerkennen sind, in Beziehung zu bringen und das System nicht durch „Artenmacherei“ unnütz zu belasten mit neuen Formen, die über kurz oder lang als Varietäten schon bestehenden Spezies einverleibt werden müssen.

Da noch keine Abbildung von Acanthonia stellata H. existiert und letztere bisher nur aus dem pacifischen Ozean bekannt war, so sei die interessante Form hier mit etwas veränderter Diagnose angeführt.

6. *Acanthonia stellata* H.

(Taf. XV Fig. 10.)

Acanthonia stellata H. 87, p. 753.

„ „ Pop., Acanthometra 1904, p. 88.

Alle Stacheln vierkantig mit anfgesetzten wenig breiten, aber dicken Flügeln. (Vierseitige Stacheln mit hochgeschliffenen Seitenflächen.) Stacheln pyramidal, allmählich von der breiteren Basis, bis zur einfachen Spitze abnehmend. Alle Basalenden im Innern zu einem Stück verwachsen, so daß das ganze Skelett ein Stück von Acanthin bildet — einen Stern mit 20 gleichen Strahlen.

Maße nach Haeckel: Stacheln lang 0,1—0,15. Größte Breite (an der Oberfläche der festen Centralkugel) 0,02—0,04. Maße für die mir vorliegenden beiden atlantischen Exemplare: Stacheln lang 0,05—0,06, breit 0,005—0,006. Durchmesser des centralen Verschmelzungsstücks 0,019.

Vorkommen: Pacifischer Ozean H. Chall. St. 271. Atlant. Ozean. Pl.-Exp., Nordäquatorialstrom 10.2° N., 22.2° W. (J. N. 150.)

Zum Schluß des systematischen Abschnitts sei noch daranf hingewiesen, daß auf Taf. XV Fig. 11, eine typische Abbildung von Amphilonche atlantica gegeben ist, die neben meiner Abbildung in: Acanthometra 1904, Taf. III, Fig. 6 zu verwerten ist. Erstere Abbildung zeigt deutlicher die typische Form der Hauptstacheln, wie sie uns auch in den Teilstücken entgegentritt.

Faunistisches.

Auch hier einiges nicht Unwichtige zur Berichtigung, beziehungsweise Ergänzung über das, was in meiner eingehenderen Arbeit (1904, Acanthometra) im faunistischen Teil gesagt wurde.

Im Floridastrom schien nach den (p. 130) dort angegebenen, nach den quantitativen Fängen gegebenen Daten, ein auffälliges Abweichen in der Zusammensetzung und dem Reichtum des Acanthometridenmaterials von dem der anderen Stromgebiete des Warmwassergebietes stattzufinden. Doch wurde von mir betont (p. 120), daß der Floridastrom infolge seiner Herkunft aus dem artenreicheren Süden einen größeren Gehalt an Acanthometriden zeigen müßte, als das nach den quantitativen Fängen der Plankton-Expedition den Anschein hatte.

Jetzt bin ich imstande, die Lücke auszufüllen, da ein Schließnetzfang der Plankton-Expedition, bei dem das Netz bis zur Oberfläche gezogen wurde, (J. N. 51 Schl.) ein ziemlich artenreich zusammengesetztes Material darbot.

Stelle ich die schon früher von mir für den Floridastrom angegebenen Formen mit den jetzt neu konstatierten znsammen, so ergibt sich folgende Übersicht:

1. Acanthochiasma Krohnii,
2. „ cruciata,
3. Acanthometron pellucidum,
4. „ bifidnm,
5. „ sphaericum,
6. Phyllostaurus siculus,
7. „ brevispinus,
8. Zygacantha latifolia Var. 1,
9. „ dicopa,
10. Zygacanthidium purpurascens,
11. „ pacificum,
12. „ longum,
13. „ complanatum,

14. Acanthonia tetracopa,
15. Acanthonidium cuspidatum,
16. „ Claparedei,
17. „ alatum,
18. „ multispinum,
19. „ tetrapterum,
20. Lithoptera Darwinii,
21. Amphilonche elongata.

Aus dieser Übersicht ergiebt sich nun folgendes: Spezifische Floridastromformen sind nicht festzustellen. Die unter 1—4 aufgeführten Spezies wurden in fast allen von der Plankton-Expedition durchkreuzten Gebieten (sowohl Kühl- wie Warmwassergebiet) angetroffen und finden sich auch hier. Die unter 5—16, 18—21 angeführten kommen im ganzen Warmwassergebiet (Nord- und Südäquatorialstrom, Guineastrom und Halostase vor). Bisher nur im Südäquatorialstrom angetroffen wurde das unter 18 aufgeführte Acanthonidium alatum, und wird das Vorkommen desselben im Gebiet des Floridastromes wohl auf Rechnung des erstgenannten Südäquatorialstromes (durch Vermittlung des Antillenstromes) zu setzen sein.

Wie ich im Abschnitt über die vertikale Verbreitung der Acanthometriden (Acanthometra 1904, p. 147—150) gezeigt habe, sind diese mit wenigen Ausnahmen Planktonorganismen der oberen (assimilierenden) Wasserschichten (etwa 400—0 m). Die Beweisführung stützte sich damals auf den Befund, wie sie die Schleimpräparate der Schließnetzfänge darboten (also nur ein kleiner Teil einer Reihe von Schließnetzfängen wurde durchgesehen). Jetzt kann ich ergänzend mitteilen, daß die Durchsicht sämtlicher Schließnetzfänge die von mir gemachten Aussagen völlig bestätigt hat. Nur in 2 von den 29 wohlgelungenen Schließnetzfängen (außer den in Acanthometra p. 149 in der Tabelle V aufgeführten) konnte ich Acanthometriden feststellen und zwar waren das:

In J. N. 198 Schl., 600—800 m Tiefe, 2 Acanthochiasma Krohnii.
In J. N. 154 Schl., 800—1000 m Tiefe, 1 Zygacanthidium complanatum.

Daß Acanthochiasma Krohnii in größeren Tiefen anzutreffen ist, war ja schon bekannt, neu ist dagegen, daß auch Zygacanthidium complanatum in größeren Tiefen seine Existenzbedingungen findet.

Figurenerklärung.

(Tafel XIV u. XV.)

Alle Figuren wurden mit dem Zeichenprisma nach konserviertem Material gezeichnet.

Fig. 1. Teilstadium von Acanthonia abcisa mit halbkugeligem Weichkörper (nur Endoplasma angedeutet in der Zeichnung), 18 vierflügligen Stacheln, also wahrscheinlich ziemlich weit fortgeschritten in der Regeneration. Vergr. 280.

Fig. 2. Vollständige Acanthonia abcisa mit viermal eingeschnürter Centralkapsel (nur Endoplasma gezeichnet mit gelben Zellen und vielen kleinen Kernen), wodurch wahrscheinlich ein Zerfall in Teilstücke vorbereitet wird. Vergr. 500.

Fig. 3. Teilstadium von Acanthonia spinifera n. sp. mit 4—5schichtigem Weichkörper (siehe vorn p. 344), Gallertcilien und vierflügligen Stacheln, an denen nur zwei Flügel gezähnt sind, die anderen beiden nicht. Fig. 3b. Stacheldetail bei stärkerer Vergrößerung. Vergr. von Fig. 3 280, von Fig. 3a 500.

Fig. 4. Fast vollständig regeneriertes Individnnm einer Acanthonia abcisa mit 18 Stacheln. Endoplasma nur angedeutet. Ektoplasma (Gallerte) vom Endoplasma durch eine helle Schicht getrennt (vgl. selbiges anch hel Acanthonia spinifera n. sp. S. 344), welche vielleicht nur einen Zwischenraum zwischen Ekto- und Endoplasma darstellt, entstanden dnrch Znrücktreten des Endoplasmas (durch Kontraktion oder Schrumpfnng) vom Ektoplasma. Besonders charakteristisch die breiten Gallertcilien, die an allen Stacheln nicht mehr erhalten waren. Vergr. 280.

Fig. 5. Habitusbild von Zoobion polyacanthum n. sp. Viele rauhe Stacheln und dünne zarte Gitterschale. Weichkörper der Deutlichkeit halber nicht eingezeichnet. Fig. 5a. Weichkörperdetail. Ein wenig körniges Plasma mit zahlreichen kleinen Kernen. Vergr. von Fig. 5 u. 5a 500.

Fig. 6. Acantochiasma solidissima n. sp. 10 Diametralstacheln im Innern durch Acanthinmasse umlagert und gefestigt. Nur Skelett gezeichnet. Vergr. 500.

Fig. 7. Einzelstachel von Acanthonidinm longispinnm n. sp. Vergr. 500.

Fig. 8. Acanthonidium Henseni n. sp. Nnr Skelett gezeichnet. Der Weichkörper folgt den vier Hauptstacheln. Vergr. 500.

Fig. 9. Teilstadinm von Amphilonche variahilis n. sp. Haupt- und Nebenstacheln vierflüglig. Weichkörper mit Gallertcilien angedentet. Der zweite Stachel rechts vom Hauptstachel scheint sich zn einem zweiten Hanptstachel auszubilden. Die vier am weitesten nach links gelegenen Stacheln wurden nicht völlig ausgezeichnet. Vergr. 500.

Fig. 10. Acanthonia stellata H. Alle 20 vierflügligen Stacheln im Centrum zu einer großen Acanthinkugel verschmolzen. Weichkörper (Centralkapsel) durch eine Linie angedeutet. Vergr. 500.

Fig. 11. Typische Abbildung von Amphilonche atlantica. Besonders charakteristisch die Form der Hauptstacheln, wie man sie auch bel den Teilstadien antrifft. Vergr. 280.

Über die Einwirkung der Radiumstrahlen auf Protozoen.

Von

Dr. **Margarete Zuelzer** (Berlin).

(Hierzu 2 Textfiguren.)

Es gibt eine Reihe von Substanzen, welche die Fähigkeit besitzen, dauernd selbständig Strahlen auszusenden. Von diesen Substanzen ist das Radium bisher am eingehendsten untersucht worden und daher in seinen Eigenschaften am besten bekannt. Die Strahlen, welche das Radium aussendet, sind nicht einheitlicher Natur. Man unterscheidet vielmehr 3 Arten, die α-, β- und γ-Strahlen. Die α-Strahlen sind wenig durchdringend. Von einer Luftschicht von 4 cm Dicke werden sie schon vollständig absorbiert. Die β-Strahlen sind kompliziert zusammengesetzt; die einzelnen Strahlenarten zeigen ein verschiedenes Durchdringungsvermögen, im ganzen aber ein stärkeres als die α-Strahlen. Die γ-Strahlen sind vermutlich identisch mit den Röntgenstrahlen und sind die am stärksten durchdringenden Strahlen des Radiums.

Außer der Fähigkeit, Strahlen zu entsenden, hat das Radium die Eigenschaft, alle Substanzen, welche mit ihm in Berührung kommen, radioaktiv zu machen. Nach den Angaben von Rutherford glaubt man diesen Vorgang darauf zurückführen zu können, daß den Radiumverbindungen ein Gas entweicht, welches Emanation genannt wird. Während jedoch die radiumhaltigen Körper ihre Radioaktivität unter den verschiedensten Bedingungen behalten, geben die durch Emanation radioaktiv gewordenen Körper ihre Radioaktivität allmählich wieder ab.

Über die **physiologischen** Eigenschaften der Radiumstrahlen liegen bereits eine Reihe von Beobachtungen vor. Die ersten Einwirkungen der Radiumstrahlen auf biologische Vorgänge wurden beim Experimentieren mit Radium meist zufällig wahrgenommen. Insekten, welche beim Umkristallisieren der Radiumverbindungen in die Nähe derselben kamen, taumelten nnd starben nach kurzer Zeit. Ferner ergab es sich, daß die Radiumstrahlen intensiv auf die menschliche Haut einzuwirken imstande waren. War menschliche Haut der Radiumeinwirkung ausgesetzt, so zeigte sich bald eine Rötung, dann Blasen- und schließlich Geschwürbildnng, je nach Dauer nnd Intensität der Bestrahlung.

Bei der Untersuchung dieser auffallenden Erscheinungen stellte es sich heraus, daß die Wirkung der Radiumstrahlen auf verschiedene Gewebe recht verschieden ist. Danysz stellte fest, daß gerade die Haut mit den sich schnell teilenden Zellen ihrer regenerativen Schicht nnd das Nervengewebe sich besonders empfindlich gegen die Radiumstrahlen verhielten, während das subkutane und das Muskelgewebe, die serösen Häute nnd die Eingeweide sich erheblich widerstandsfähiger zeigten. Die sich schnell teilenden Zellen maligner Geschwülste degenerieren und zerfallen sehr rasch unter Radiumeinwirkung und zwar so schnell, daß auf das umgebende Gewebe wohl ein Reiz, jedoch keine zerstörende Wirkung ausgeübt wird.

Die Untersnchungen von Schwarz 1903 sind die ersten, welche für dies elektive Verhalten der Radiumstrahlen eine Erklärung zu geben versnchen. Schwarz fand, daß der Dotter des Hühnereies durch die Radiumstrahlen zersetzt wurde, während das Eiweiß unverändert blieb. Als Ursache hierfür bezeichnet Schwarz, besonders auf Grund der Feststellung eines „tranigen Geschmacks“, Zersetzung des Lecithins im Eidotter durch elektive Wirkung der Radiumstrahlen.

Neuberg wies jedoch nach, daß die Radiumstrahlen das Lecithin der lebenden Zelle kaum zersetzen können, da sie weder reines Lecithin, noch Proteïnstoffe, noch gekochtes Eiweiß zerstören. Aus dem Ausbleiben der zerstörenden Wirkung der Radiumstrahlen auf gekochtes Gewebe glaubt Neuberg schließen zu dürfen, daß es die Fermente seien, welche in erster Linie auf die Radiumstrahlen reagieren. Nach seiner Meinung vernichten die Radiumstrahlen alle den Stoffwechsel bewirkenden, lebenserhaltenden Enzyme; nur das autolytische Enzym, das besonders reichlich gerade in pathologischen Neubildungen vorhanden ist, sei besonders widerstandsfähig gegen die Radiumstrahlen.

Untersuchungen über die histologischen und morphologischen Veränderungen, welche die Radiumstrahlen hervorrufen, liegen nur in geringer Zahl vor. Perthes studierte den Einfluß der Radiumstrahlen auf sich entwickelnde Eier von *Ascaris megalocephala*. Diese Eier zeigten eine Verlangsamung der Zellteilung und Entstehung abnormer Entwicklungsprodukte unter Radiumbestrahlung. Auch stellte Perthes eine Verlangsamung und Störung der Karyokinese fest. Ebenfalls einen hemmenden Einfluß der Radiumstrahlen auf embryonale Differenzierung und Wachstum fand Schaper bei Fröschen. Bei Embryonen, welche bereits erhebliche Zerfallserscheinungen und Deformationen ihres Körpers zeigten, blieben jedoch die einzelnen Ektodermzellen noch lebensfähig. Daraus schließt Schaper, daß „also die lebende Substanz der Zelle durch Wirkung des Radiums noch keine wesentliche Veränderung erfahren hat zu einer Zeit, wo in der Organisation des jungen Organismus sowohl wie der einzelnen Zelle sich tiefgreifende Schädigungen bemerkbar gemacht haben".

Weitere Beobachtungen über die das Wachstum hemmende Eigenschaft der Radiumstrahlen wurden an Wurzelsprossen von *Vicia faba* gemacht, auch die Keimfähigkeit verschiedener Pflanzensamen nach Radiumbestrahlung wurde untersucht.

Von einzelligen Organismen wurden in erster Linie Bakterien in den Kreis der Untersuchungen gezogen. Aschkinass u. Caspari konstatierten an Kulturen von *Micrococcus prodigiosus* die baktericide Eigenschaft der Radiumstrahlen und zwar speziell der α-Strahlen; diese wurde bald auch für pathogene Bakterien bestätigt.

An Bakterien ist es infolge ihrer geringen Größe unmöglich, das Verhalten der lebenden Zellsubstanz gegenüber den Radiumstrahlen zu beobachten. Es schien mir nun nicht uninteressant, solche Objekte zur Untersuchung zu wählen, bei denen die Beobachtung der Wirkung der Radiumstrahlen auf die einzelne Zelle im lebenden Zustande möglich und deren Lebenserscheinungen genügend bekannt sind, um eventuelle Störungen festzustellen. Diese Bedingungen schienen mir nun von einzelnen Protozoen erfüllt zu werden, und diese daher geeignet, die spezifische Wirkung der Radiumstrahlen auf die lebende Zelle zu studieren.

Leider gestattet mir die geringe Zahl der nachfolgenden Beobachtungen nicht, mit Sicherheit allgemeine Schlüsse zu ziehen. Da ich jedoch durch äußere Umstände gezwungen bin, meine Untersuchungen vorläufig abzubrechen, so habe ich mich dazu entschlossen, sie, obgleich sie nur Fragmente sind, hier mitzuteilen.

Durch die Güte des Herrn Prof. Dr. Miethe stand mir ein Präparat von 1,8 gr Radiumbariumbromid für meine Untersuchungen zur Verfügung. Das Salz befand sich in einer 6 mm hohen Messingkapsel, zu einer Kreisfläche von 3 cm Durchmesser ausgebreitet; die Kapsel war mit einem sehr dünnen Aluminiumblech verschlossen. Für Kontrollversuche verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. Caspari 10 mg reines Radiumbromid. Dies Präparat war in der Vertiefung einer Hartgummikapsel zu einer Kreisfläche von nur $^3/_4$ cm Durchmesser ausgebreitet und durch eine Glimmerplatte verdeckt. Dies Präparat bot bei der Beobachtung verschiedene Vorteile, auch dadurch, daß das Salz auf eine kleine Fläche beschränkt war und so eine konzentriertere Wirkung der Strahlen gestattete. Die Radioaktivität beider Präparate war fast die gleiche, gemessen an ihrer die Luft ionisierenden Wirkung.

Die Untersuchungsobjekte mußten dem Radium möglichst genähert werden, um, soweit dies bei der nachfolgend beschriebenen Versuchsanordnung überhaupt möglich war, eine vorherige Absorption der wirksamen Strahlen zu vermeiden. Ich benutzte deshalb eine Glimmerplatte von ca. 4 μ Dicke, hierauf wurde ein Glasring festgekittet, welcher 1 cm Durchmesser und 3—4 mm Höhe hatte. In diesen Glasring wurde Kulturwasser mit den der Radiumeinwirkung auszusetzenden Tieren gebracht und meist mit einem Deckglas zugedeckt. Es erwies sich im Laufe der Untersuchung jedoch als zweckmäßiger, die Beobachtungen auf dem dünnen Glimmerobjektträger unter einem mit Wachsfüßchen versehenen Deckglase vorzunehmen, das mit Paraffin luftdicht verschlossen wurde. Denn die Wassermenge, in welcher die Versuche unternommen werden, und der Luftzutritt haben einen nicht unerheblichen Einfluß auf den Verlauf derselben.

Der Objektträger wurde entweder direkt auf die Radiumkapsel gelegt oder das Radium auf dem Beleuchtungsapparat des Mikroskopes dem Objektträger bis zur Berührung genähert. Zur mikroskopischen Beobachtung konnte so das Radium schnell entfernt werden. In einigen Fällen näherte ich das Radium dem offenen Glasring von oben her, bis auf ca. 4 mm Entfernung von der Wasseroberfläche, so daß die Strahlen, ohne den Glimmer des Objektträgers zu passieren, auf die Tiere einwirken konnten.

Als günstiges Untersuchungsobjekt erwies sich der große und hier häufige Süßwasserrhizopode *Pelomyxa palustris*. Um den Einfluß des Lichtes auf dieses stark lichtempfindliche Tier möglichst auszuschließen, wurde das Licht soweit abgeblendet, daß man das Tier

bei mikroskopischer Betrachtung nur eben noch deutlich erkennen konnte. Ein möglichst ruhig liegendes Tier wurde dann längere Zeit beobachtet, und dann das Radiumpräparat von unten her unter Vermeidung des Einfalls von Lichtstrahlen dem Objektträger genähert, auf welchem sich die Tiere befanden, und zwar so, daß sich die Tiere direkt über dem Radium befanden. Nach etwa 4—10 Minuten begann die Pelomyxa lebhaft umherzukriechen. Die Plasmaströmung war beschleunigt. Nach weiteren 8—15 Minuten verlangsamte sich die Plasmaströmung und sistierte ganz allmählich, das Tier lag ruhig und begann sich abzukugeln. Das Plasma nahm nach und nach immer mehr Wasser auf und quoll infolgedessen stark auf. Schließlich zerplatzten die Tiere und zerfielen rasch. Die Zeitdauer dieses Prozesses schwankt bei den einzelnen Individuen. Manche Tiere können abgekugelt 1—4 Stunden ruhig daliegen, sie quellen dann langsam auf und zerplatzen zuletzt, andere zerfallen bereits nach ca. 10 Minuten.

Brachte ich das Radium so unter den Objektträger, daß sich die Tiere über der Grenze von Radium und Hartgummi befanden, so konnte ich nach ungefähr 5—10 Minuten der Bestrahlung eine beschleunigte Plasmaströmung der Tiere, und zwar nach dem Radium hingerichtet, wahrnehmen. Die Pelomyxen krochen nach dem Radium hin und lebhaft über demselben umher. Dann kamen die Tiere zur Ruhe. Wenn ich nun durch vorsichtiges Verschieben des Objektträgers die Tiere wiederum über die Grenze von Radium und Hartgummi brachte, so trat bei einer Anzahl von Tieren nach einigen Minuten von neuem eine langsame Plasmaströmung ein. Die Strömung war jetzt vom Radium fort gerichtet. Krochen diese Tiere aus dem Bereich der Radiumeinwirkungen fort, so konnten sie sich wieder ganz erholen und weiterleben, wenn sie, in neues Kulturwasser gebracht, der Radiumeinwirkung entzogen blieben.

Während die Tiere, bereits mit verlangsamten Bewegungen, über dem Radium umherkrochen, wurden häufig kleine Plasmapartien von ihnen abgeschnürt, und zwar stets an dem der Kriechrichtung entgegengesetzten Körperende. Diese Tröpfchen wurden meist schnell ausgestoßen, häufig jedoch saßen sie erst dem Tiere wie eine Blase auf, und oft erfuhren sie nach ihrer Abschnürung eine Volumvergrößerung bis auf das Doppelte ihres ursprünglichen Durchmessers. Schließlich platzten diese Kugeln und zerfielen.

Welchen Grund die verschiedene Widerstandsfähigkeit der einzelnen Pelomyxen hat, vermag ich nicht zu sagen. Es ist zu beachten, daß häufig auch normale Pelomyxen ohne eine nachweisbare

Ursache zerplatzen. Es geschah dies auch mitunter bei einzelnen Kontrolltieren. Bei den Tieren, welche der Radiumeinwirkung ausgesetzt waren, verlief der Vorgang jedoch ganz charakteristisch: zunächst trat eine Beschleunigung, dann eine Verlangsamung der Plasmaströmung, und schließlich, vor dem Zerplatzen, ein Aufquellen der Tiere ein.

Amoeba limax zeigte sich viel widerstandsfähiger gegen die Radiumeinwirkung als Pelomyxa palustris. Wurden die schnell umherkriechenden Tiere der Radiumeinwirkung ausgesetzt, so verlangsamten sie allmählich ihre Bewegungen. Nach 3—4 Stunden lagen die Tiere ruhig und kugelten sich ab. So lagen sie noch unverändert nach 24 Stunden. Entzog ich sie dann der Radiumeinwirkung, so erholten sie sich wieder vollständig und krochen schon nach 2 Stunden normal umher.

Arcella vulgaris (2kernige Form) zog etwa 10 Min. nach Beginn der Bestrahlung ihre Pseudopodien ein, die Gasblasen in ihrem Inneren wurden absorbiert, und die Tiere sanken zu Boden. Das Plasma ballte sich in der Schale zu einer Kugel zusammen. Die Tiere blieben so unverändert während 3 tägiger Bestrahlung. Nach dieser Zeit wurden sie in neues Wasser gebracht und erholten sich darin schnell. Bereits nach 2 Stunden streckten sie wieder Pseudopodien aus.

Difflugia pyriformis verhielt sich ganz ähnlich. Auch sie zog sich kurz nach Beginn der Bestrahlung in ihre Schale zurück, und dort kugelte sich das Plasma ab. Auch sie erholte sich nach 3 tägiger Bestrahlung in kurzer Zeit.

Actinosphaerium Eichhorni wurde im offenen Glasring von oben her bestrahlt. Die gut gefütterten Tiere begannen nach 3 stündiger Bestrahlung ihre Nahrung auszustoßen. Nach 24 stündiger Bestrahlung zeigten die Tiere eine verlangsamte Pulsation ihrer etwas vergrößerten Vakuolen. Nach 48 Stunden hatten von 15 Tieren 3 ihre Pseudopodien eingezogen und waren zu Boden gesunken. Die Tiere waren aufgequollen und ihr Plasma gleichmäßig vakuolisiert, so daß der Unterschied von Mark und Rindenschicht verschwunden war. Im Laufe desselben Tages begannen auch die übrigen Tiere ihre Pseudopodien einzuziehen und aufzuquellen. Nach 72 stündiger Bestrahlung war ein Teil der Tiere zu Körnerhaufen zerfallen. Die überlebenden wurden fixiert und gefärbt. Bei der Untersuchung derselben waren Kerne nicht zu entdecken, sondern das Plasma war nur von Chromidien durchsetzt.

Ein großes Actinosphaerium, das gerade in Teilung begriffen war, wurde den Radiumstrahlen ausgesetzt. Die Teilung war beinahe vollendet, die Tiere fast vollständig durchgeschnürt. Diese Teilung schritt nicht fort, sondern nach $1^1/_4$ stündiger Bestrahlung begannen die Teilstücke wieder miteinander zu verschmelzen, nach weiteren $^3/_4$ Stunden betrug die Einschnürung nur noch $^1/_5$ des Durchmessers der Tiere; nach weiteren 2 Stunden war jede Andeutung einer Einschnürung verschwunden. Die Kontrolltiere, welche ich auf einem ähnlichen Stadium isolierte, hatten sich normal geteilt.

Spirostomum ambiguum, dieses große, auf Reize durch schnelles Zusammenzucken reagierende Infusor, war nach 24 stündiger Radiumbestrahlung unverändert. Reizt man das Tier durch Berührung mit einer feinen Glasnadel, so erfolgt zuerst das Zusammenzucken blitzschnell wie beim normalen Spirostomum; wiederholt man jedoch diese Berührung mehrmals hintereinander, so erfolgen die Kontraktionen immer langsamer. Nach etwa 36 stündiger Bestrahlung schwamm ein großer Teil der Tiere langsam einher, ihr Plasma war gelblich opak, sie waren fast auf den Boden des Behälters gesunken, ihre kontraktile Vakuole war stark vergrößert; nach Berührung kontrahierten sie sich sehr langsam. Ein Teil dieser Tiere wurde konserviert und gefärbt und zeigte eigentümliche Veränderungen des Makronukleus. Derselbe ist bei normalen *Spirostomum ambiguum* rosenkranzförmig eingeschnürt und zeigte bei der mir zur Verfügung stehenden Form gewöhnlich 28–34 Einschnürungen (Textfigur 1). Die Kernsubstanz des Makronuklens war nun bei den oben geschilderten Tieren zusammengeflossen und lag in 4—7 großen, stark färbbaren Kugeln meist terminal, nahe der vergrößerten Vakuole (Textfigur 2). Auf den Präparaten waren alle Übergänge des Zusammenfließens vom rosenkranzförmigen Kern bis zu den 4—7 großen Kngeln zu erkennen. — Auch das Protoplasma unterschied sich von dem normalen: es zeigte sich aufgequollen und vakuolisiert. Die Intensität dieser Veränderungen schien mir aber nicht so ausgeprägt zu sein, wie die, welche man gleichzeitig am Kern beobachtete.


Fig. 1.


Fig. 2.

Wie Herr Dr. Thon mir mitteilte, fand er anch ganz ähnliche Verhältnisse bei *Spirostomum ambiguum*, und zwar bei Exemplaren, welche

er einige Zeit Hunger und Kälte ausgesetzt hatte. Brachte er die Tiere wieder in normale Temperatur und günstige Nahrungsbedingungen zurück, so beobachtete er, daß die Tiere den normalen, rosenkranzförmigen Makronukleus regenerierten. Ich habe diese Umwandlung leider nicht verfolgen können. Die Tiere begannen nach etwa 3—4 tägiger Bestrahlung sich zu kontrahieren; nach und nach erreichten sie etwa $^1/_4$ ihrer ursprünglichen Körperlänge. Sie quollen dabei auf; auf mechanische Reize reagierten sie nicht mehr durch Zusammenzucken. Diese kleinen, fast rundlich gewordenen Individuen zerplatzten nach 5—6 tägiger Bestrahlung und zerfielen. — Nicht bei allen Tieren waren die oben beschriebenen Kernveränderungen gleich deutlich; ein Teil zeigte den Makronukleus nur etwas aufgequollen und die Einschnürungen mehr oder weniger verschwunden. Ich nahm jedoch in der Widerstandsfähigkeit beider Kategorien von Tieren keinen Unterschied wahr.

Brachte ich Exemplare von *Spirostomum ambiguum*, deren Kerne bereits geteilt waren, und die nur noch durch einen dünnen Plasmafaden zusammenhingen — man findet diese Stadien in sich lebhaft vermehrenden Kulturen häufig, — unter Radiumeinwirkung, so sah ich nach einiger Zeit, wie die Plasmaverbindung durchriß, und die beiden Tiere lebhaft von dannen schwammen. Nahm ich jedoch Spirostomen, die mir durch ihre Größe als Teilungskandidaten erschienen, deren Kerne aber noch unverändert waren, und setzte sie dem Radium aus, so konnte ich nie eine Teilung beobachten. Ich brachte mehrfach eine gezählte Menge solcher Tiere unter Radiumstrahlen, konnte aber eine Zunahme der Zahl niemals feststellen. Die Kontrolltiere vermehrten sich lebhaft. Eine Teilung der Tiere unterblieb also bei Radiumbestrahlung, wenn die Kerne beim Beginn des Versuches noch ungeteilt waren.

Exemplare von *Lionotus* (sp.?) mit Radium bestrahlt, bewegten sich nach etwa 5 stündiger Bestrahlung, wie es mir schien, lebhafter als die Kontrolltiere. Nach 24 stündiger Bestrahlung war die kontraktile Vakuole vergrößert, und die Tiere bewegten sich langsamer als die Kontrolltiere. Teilungen der Tiere fanden niemals statt, während die Kontrolltiere sich lebhaft vermehrten. Nach 2 tägiger Bestrahlung begannen die Tiere durch Vakuolisation deformiert zu werden, ihre Bewegungen wurden immer langsamer. Die Tiere quollen allmählich immer mehr auf, waren von Vakuolen durchsetzt und hatten dadurch ihre ursprüngliche Körperform verloren. Sie zeigten vielfache Einbuchtungen und Vorwölbungen, konnten jedoch in diesem deformierten Zustande noch längere Zeit langsam umher-

schwimmen. Nach 3—5tägiger Bestrahlung zerplatzten sie und zerfielen.

Wurde *Paramaecium caudatum* im offenen Glasring von unten her den Radiumstrahlen ausgesetzt, so zeigten die Tiere zuerst eine große Unruhe und schwammen lebhaft, meist im Kreise, umher. Nach 24 Stunden waren ihre Bewegungen langsamer geworden, die pulsierende Vakuole hatte sich vergrößert und ihre Pulsationen verlangsamt. Teilungen fanden nicht statt; die Kontrolltiere vermehrten sich lebhaft. Präparate dieser Tiere zeigten den Makronuklens in mehrere Zipfel ausgezogen und stark färbbar. — Setzte ich nun *Paramaecium caudatum* unter einem mit Paraffin luftdicht verschlossenen Deckglase den Radiumstrahlen aus, so schwammen die Tiere nur etwa 40 Minuten lebhaft umher. Dann verlangsamten sie ihre Bewegungen, die pulsierende Vakuole vergrößerte sich, und das Plasma begann sich, besonders am vorderen Körperende, stark zu vakuolisieren und anfzuquellen. Nach 3 Stunden bereits waren die Tiere unförmig aufgequollen, sie platzten und zerflossen. Die Kontrolltiere blieben während mehrerer Tage unverändert.

Es ist bei diesem Versuche besonders deutlich zu sehen, welchen Einfluß die Wassermenge und der Luftabschluß auf den Verlauf der Versuche haben. Auch gelingt es nicht immer, den Glimmer gleich dünn zu spalten, so daß die Radiumstrahlen bei den einzelnen Versuchen nicht immer mit der gleichen Intensität wirken können. Es war daher für mich von Wichtigkeit, daß zufällig in derselben Kultur *Spirostomum ambiguum* und *Paramaecium bursaria* reichlich vorhanden waren. Ich konnte beide Spezies gleichzeitig unter denselben Bedingungen beobachten. Ich setzte eine bestimmte Anzahl von *Spirostomum ambiguum* und den chlorophyllhaltigen *Paramaecium bursaria* den Radiumstrahlen aus und fand mehrfach, daß sich einzelne *Paramaecium bursaria* geteilt hatten, während dies, wie oben angegeben wurde, bei den der Radiumwirkung ausgesetzten *Spirostomum ambiguum* nie der Fall war. Ich suchte nun wieder möglichst große Exemplare von *Spirostomum ambiguum* und *Paramaecium bursaria* heraus und setzte sie der Radiumeinwirkung aus. Es ließ sich dann fast regelmäßig durch Zählen ermitteln, daß sich von den *Paramaecium bursaria* einige im Laufe der ersten 24 Stunden der Bestrahlung geteilt hatten (häufig von 10 Tieren etwa 4—7) während bei *Spirostomum* dies nie der Fall war. Nach 30stündiger Bestrahlung fanden Teilungen auch bei dieser chlorophyllhaltigen Form nicht mehr statt. Die Tiere, die sich während 36stündiger Bestrahlung nicht merkbar verändert hatten, verlangsamten dann

ihre Bewegungen. Sie quollen nach 3—4tägiger Bestrahlung langsam auf und zerfielen. Konservierte Exemplare zeigten den Makronukleus etwas aufgeschwollen und stark tingierbar.

Leider stand mir zur Zeit der vorstehenden Untersuchungen nur die eine Art chlorophyllhaltiger Protozoen in größerer Menge zur Verfügung, so daß ich die Ergebnisse nicht anderen chlorophyllhaltigen Formen kontrollieren konnte. Es hat sich also gezeigt, daß die Kernteilung bei den untersuchten chlorophyllosen Infusorien bei Radiumeinwirkung unterblieb, während sie bei dem chlorophyllhaltigen *Paramaecium bursaria* anfangs normal verlief. Es legt dies den Gedanken nahe, daß die an die Belichtung des Chlorophylls gebundene Abspaltung von Sauerstoff die auf die Kernteilung schädigende Wirkung der Radiumstrahlen aufhielt.

Auch Willcock fand chlorophyllhaltige Tiere, *Euglena viridis* und *Hydra viridis*, welche er dem Radium aussetzte, sowohl widerstandsfähiger gegen die zerstörende Wirkung der Strahlen als auch reizempfindlicher.

Was nun die hemmende Wirkung des Chlorophylls gegen diesen schädigenden Einfluß anbetrifft, so möchte ich zur Erklärung auf die Untersuchungen Hertel's hinweisen. Hertel stellte eine stark reduzierende Wirkung des ultravioletten Lichtes von 280 $\mu\mu$ Wellenlänge auf die tierische und pflanzliche Zelle fest. Auch die von Hertel untersuchten Organismen erwiesen sich als widerstandsfähiger gegen den schädigenden Einfluß der ultravioletten Strahlen, wenn sie Chlorophyll enthielten. Schon Aschkinass u. Caspari haben darauf hingewiesen, daß die sehr ähnliche Wirkung so verschiedener Strahlenarten wie der Röntgen-, Kathoden- und Becquerelstrahlen, sowie der blauen, violetten und ultravioletten Strahlen des Spektrums durch eine gemeinsame Ursache, ihre ionisierende (dissociierende) Kraft zu erklären sei.

Sollte es sich nun bestätigen, daß ebenso wie die ultravioletten auch die Radiumstrahlen Sauerstoff entziehend auf den Stoffwechsel der Zelle einzuwirken imstande sind, so wären aus diesem Gedankengange heraus vielleicht auch die Versuche von Veneziani zu erklären. Veneziani fand die *Opalina ranarum*, welche er im hängenden Tropfen von physiologischer Kochsalzlösung der Radiumeinwirkung aussetzte, stets länger lebend, als die Kontrolltiere.[1]) Die Tiere leben normalerweise in einem sauerstoffarmen Medium, dem Darm.

[1]) Veneziani spricht von Encystierung der Opalinen, meint aber wohl Absterbeerscheinungen.

Die in einem sauerstoffreichen Medium, dem Rattenblute, lebenden Trypanosomen dagegen fanden Laveran u. Mesnil unter Radiumeinwirkung im hängenden Tropfen bereits nach 12 Stunden zerstört, während die Kontrolltiere mehrere Tage lebten. Doch mag dies auch in der zerstörenden Wirkung der Radiumstrahlen überhaupt seine Erklärung finden.

Meine Beobachtungen dürften die elektive Wirkung der Radiumstrahlen bestätigen, und zwar auf eine spezielle Schädigung der Kernsubstanz hinweisen. Es sprechen hierfür sowohl die geschilderten Kernveränderungen von *Spirostomum ambiguum*, als auch das gänzliche Unterbleiben der Kernteilungen bei den chlorophyllosen Infusorien. Die Störung der Spermatogenese und die Abtötung von Spermatozoen durch gesundes Gewebe hindurch, die schnelle Zerstörung der Haut und maligner Geschwülste mit ihren sich schnell teilenden Zellen mögen vielleicht auf der gleichen Eigenschaft der Radiumstrahlen beruhen.

Das Protoplasma scheint erst später allmählich geschädigt zu werden. Diese Schädigung zeigt sich bei den untersuchten Protozoen deutlich zuerst in der Vergrößerung der pulsierenden Vakuolen und in der Verlangsamung ihrer Pulsation, sodann in den Quellungserscheinungen. Es ist übrigens bemerkenswert, daß Kölsch sehr ähnliche Quellungs- und Absterbeerscheinungen bei ciliaten Infusorien beobachtete, denen Sauerstoff entzogen wurde.

Die untersuchten Protozoen zeigten eine sehr verschiedene Empfindlichkeit gegen die Einwirkung der Radiumstrahlen. Eine Ähnlichkeit mit der Einwirkung des ultravioletten Lichtes zeigten die Radiumstrahlen auch insofern, als sie erst einen Reiz auf das Protoplasma ausübten — ein Vorgang, der besonders bei Pelomyxa deutlich wurde. Erst hierauf folgte die schädigende Wirkung, *Pelomyxa palustris, Difflugia pyriformis* und *Arcella vulgaris* waren aber imstande, sich von häufig sogar recht beträchtlichen Störungen wieder zu erholen. Bei längerer Einwirkungsdauer übten die Radiumstrahlen jedoch eine tödliche Wirkung auf alle untersuchten Protozoen aus.

Berlin, Dezember 1904.

Literaturverzeichnis.

ASCHKINASS, E. & W. CASPARI: Über den Einfluß dissoziierender Strahlen auf organische Substanzen, insbesondere über die bakterienschädigende Wirkung der Becquerelstrahlen. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 86 1901.

CASPARI, W.: Die Bedeutung des Radiums und der Radiumstrahlen für die Medizin. Zeitschr. f. diätet. u. physikal. Therapie Bd. 8 Heft 1 1904.

DANYSZ: De l'action pathogène des rayons et des émanations émis par le radium sur différents tissus et différents organismes. Compt. R. Acad. Sci. Paris Tome 136 p. 461 1903.

HERTEL, E.: Über Beeinflussung der Organismen durch Licht, speziell durch die chemisch wirksamen Strahlen. Vergleichend physiologische Untersuchungen. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 4 Heft 2 1904.

KÖLSCH, E.: Untersuchungen über Zerfließungserscheinungen der ciliaten Infusorien. Zool. Jahrb. Morph. Abt. Bd. 16 1902.

KÖRNICKE: Die Wirkung der Radiumstrahlen auf Keimung und Wachstum. Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. 23. Jahrg. Heft 2 p. 155 1904.

LAVERAN, A. et F. MESNIL: Les Trypanosomes et les Trypanosomiases. Paris 1904 8°.

NEUBERG, E.: Chemisches zur Carcinomfrage. Ztschr. f. Krebsforschung 1904 p. 171.

PERTHES, G.: Versuche über den Einfluß der Röntgenstrahlen und der Radiumstrahlen auf die Zellteilung. Deutsch. med. Wochenschr. Bd. 30 p. 632 1904.

SCHAPER, A.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Radiumstrahlen und der Radiumemanation auf embryonale regenerative Entwicklungsvorgänge. Anat. Anz. Bd. 25 Nr. 12—14 1904.

SCHWARZ, G.: Über die Wirkung der Radiumstrahlen. (Eine physiolog.-chemische Studie am Hühnerei.) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 100 1903.

VENEZIANI, A.: Über die physiologische Einwirkung des Radiums auf die Opalina ranarum. Centralbl. f. Physiol. Bd. 18 p. 130 1904.

WILLCOCK, E. G.: The action of the rays from radium upon some simple formes of animal life. Journ. Phys. Cambridge Vol. 30 p. 449 1904.

Protozoen-Literatur

1904. III. Teil.*)

[Zusammengestellt vom Herausgeber.]

Allgemeines.

Ariola, V.: Simbiosi e parassitismo nel regno animale. Genoa 1904 (Carlini) 8° 27 p.

Barratt, J. O. W.: Die Reaktion des Protoplasmas in ihrem Verhältnis zur Chemotaxis. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. v. 4 H. 1 1904 p. 87—104 2 Taf.

Benedikt, M.: Krystallisation und Morphogenesis; biomechanische Studie. Wien 1904 (Perles) 8° 68 S.

Birukoff, B.: Zur Theorie der Galvanotaxis. in: Arch. Anat. Physiol. (physiol. Abt.) 1904 p. 271—296 4 Textfig.

Blanchard, R.: Zoologie et médecine. in: Arch. de Parasit. v. 9 Nr. 1 1904 p. 129—144. (Protozoen-Forschung.]

—: La médecine coloniale. in: Arch. de Parasit. v. 9 Nr. 1 1904 p. 95—121. [Protozoen-Forschnng.]

Borini, A.: I protozoi parassiti dell' intestino umano in rapporto alla diagnostica clinica, con prefacione di E. Perroncito. Torino (G. Castellotti) 1904 16° 4 p.

Brauer, A.: Der Stand der Viehseuchen im Plantagengebiete Ost-Usambaras. in: Bericht über Land- u. Forstwirtsch. in Deutsch-Ostafrika v. 2 H. 1 1904 p. 8—10. [Trypanosomosen.]

Brault, A. & M. Loeper: Le glycogène dans le développement de quelqnes organismes inférieurs (Sporozoaires, Coccidies, Champignons, Levures). in: Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. v. 6 Nr. 4 1904 p. 821—823.

Busck, G.: Lichtbiologie. Eine Darstellung der Wirkung des Lichtes auf lebende Organismen. in: Mitteil. a. Finsen's Medicinske Lysinstitut H. 8 1904 8 Textfig.

---

*) I. Teil cf. diese Zeitschrift v. 4 1904 p. 391—400.
II. „ „ „ „ v. 5 1904 p. 267—270.

Dreyer, G.: Untersuchung über die Einwirkung des Lichtes auf Infusorien. in: Mitteil. a. Finsen's Mediciniske Lysinstitut H. 7 1904 Nr. VI.

Dyé, L.: Les parasites des Culicides. in: Arch. de Parasit. v. 9 Nr. 1 1904 p. 5—77 6 Textfig. [Hämosporidien, Myxosporidien.]

Enriques, P.: Sulla cosi detta degenerazione senile dei protozoi. in: Monitore zool. ital. Firenze v. 14 1903 p. 349—351.

Giemsa, G.: Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nocht'schen Chromatinfärbung. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 2 1904 p. 308 - 311.

Goldschmidt, R.: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. in: Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontog. v. 21 H. 1 1904 S. 49—140 Taf. 3—8 16 Textfig. [Kernverhältnisse der Protozoen.]

Green, A. B.: A note on the action of radium on Micro-organisms. in: Proc. Roy. Soc. London v. 73 1904 p. 275—381.

Guttmann, W.: Das „Ultramikroskop". in: Fortschr. d. Medic. 1904 Nr. 7.

Halben, R.: Theoretisches über die Bedeutung des Pigments für den Sehakt der Wirbellosen, speziell der Protozoen. in: Biol. Centralbl. v. 24 Nr. 8 1904 p. 283—288.

Hertel, E.: Über Beeinflussung des Organismus durch Licht, speziell durch die chemisch wirksamen Strahlen. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. v. 4 p. 1—43 1 Taf. 1 Textfig. [Infusorien.]

Ikeno, S.: Blepharoplasten im Pflanzenreich. in: Biol. Centralbl. v. 24 Nr. 6 p. 211 —221 3 Textfig.

Jennings, H. S.: Reactions to Light in Ciliates and Flagellates. Contributions to the Study of the Behavior of Lower Organisms, second Paper. in: Public. of the Carnegie Inst. Nr. 16 1904 p. 29—71.

—: Physiological States as Determining Factors in the Behavior of Lower Animals. Ibid. p. 109—127.

—: The Method of Trial and Error in the Behavior of Lower Organisms. Ibid. p. 235—252.

—: Physical Imitations of the Activities of Amoeba. in: Amer. Natural. v. 38 1904 p. 625—642 3 Textfig.

Jodlbauer, B.: Über die Wirkung photodynamischer (fluorescierender) Substanzen auf Paramäcien und Enzyme bei Röntgen- und Radiumbehandlung. in: Deutsch. Arch. f. klin. Med. v. 80 1904 p. 488—491.

Kohl, F. G.: Zur Frage nach der Organisation der Cyanophyceen und nach der mitotischen Teilung ihres Kernes. in: Beihefte z. bot. Centralbl. (Orig.) v. 18 H. 1 1904 p. 1—8.

Launoy, L.: Sur la contractilité du protoplasme. I. Action du chlorhydrate d'amyleine sur le mouvement ciliaire. In: C. R. Acad. Sci. Paris v. 139 1904 p. 162—165.

Marino, F.: Coloration des Protozoaires et observations sur la neutrophilie de leur noyau. in: Ann. de l'Institut Pasteur v. 18 Nr. 12 1904 p. 761—766 Taf. 9.

Mencl, E.: Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien. In: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II v. 12 1904 p. 559—574 1 Taf.

Nocht, B.: Über Tropenkrankheiten (Gelbes Fieber, Schlafkrankheit, Beriberi). in: Zeitschr. f. ärztl. Fortbild. Jahrg. 1 1904 p. 603—614 8 Textfig.

Olive, E. W.: Mitotic division of the nuclei of the Cyanophyceae. in: Beihefte z. bot. Centralbl. (Orig.) v. 18 H. 1 1904 p. 9—44 2 Taf.

Plehn, A.: Zu meiner Mitteilung über Schnellfärbung und Schnittfärbung nach Romanowsky. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 9 H. 1 1905 p. 17.

Raehlmann, E.: Die ultramikroskopische Untersuchung nach H. Siedentopf und R. Zsigmondy und ihre Anwendung zur Beobachtung lebender Mikroorganismen. in: Münch. med. Wochenschr. 1904 Nr. 2.

Sabrazès, J.: Paramécies, microbes et tissus organisés. in: Gaz. hebd. Sci. med. Bordeaux, v. 25 1904 p. 413.

Schoenichen, W.: Der physiologische Tod bei den Protozoen. in: Zeitschr. f. Nat. v. 77 1904 p. 128—130.

Statkewitsch, P.: Galvanotropismus und Galvanotoxys der Ciliaten. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. v. 4 1904 p. 296—332 14 Textfig.

Tappainer, H. v. & A. Jodlbauer: Über die Wirkung der photodynamischen (fluorescierenden) Stoffe auf Protozoen und Enzyme. in: Deutsch. Arch. f. klin. Med. v. 80 1904 p. 427—487.

Ward, H. B.: Protozoa. in: Wood's Reference Handbook med. Sc. Rev. Edit. v. 8 1904 p. 527—549 1 Taf.

Woodcock, H. M.: Protozoa [Report 1903]. in: Zoological Record vol. XL p. 1—71 Dezember 1904.

I. Kl.: *Sarcodina.*

I. Subkl.: *Rhizopoda.*

[Hierbei Literatur über Amöben-Dysenterie.]

Cash, J.: On some New and Little-known British Freshwater Rhizopoda. in: Journ. Linn. Soc. London Zool. v. 29 1904 p. 218—225.

Castellani, A.: Dysentery in Ceylon. in: Journ. of the Ceylon Branch of the Brit. Med. Assoc. 1904 (17. June) [Separat-Abdruck] p. 1—14 1 Taf.

Chapman, F.: On the Mineralogical Structure of the Porcellanous Foraminifera. in: Ann. Mag. nat. Hist. (7) v. 14 1904 p. 310.

Craig, C. F.: Classification of amoeba coli. in: Am. Med. Philadelphia v. 8 1904 p. 185.

Dopter, Ch.: Transmissibilité de la dysenterie amibienne en France. in: Presse méd. 1904 p. 705.

Fenoglio, J.: Sull' azione patogena dell' Amoeba coli. Enterocolite de Amoeba coli. in: Scritti Medici in onore del Prof. Dr. C. Bozzolo, Torino 1904 8 p. 245—267. [Referat in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II (Ref.) v. 135 H. 17/18 1904 p. 538.]

Gough, G. C.: Foraminifera in Glacial Sands. in: Irish Natural. v. 13 1904 p. 257—258.

Hartsock, F. M., The dysentery of the tropics, with special reference to our insular possessions. in: New-York med. Journ. v. 80 1904 p. 107—109.

Jeffries: Presentation of a Specimen of Urine Containing Amoebae. in: Medic. Record New-York v. 66 1904 p. 356.

Kartulis: Gehirnabscesse nach dysenterischen Leberabscessen. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 4 1904 p. 527—530 1 Taf. [Amöben.]

—: Über mit Appendicitis komplizierte Leberabscesse. in: Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. v. 48 H. 3 1904 p. 499—511 1 Taf. [Amöben.]

KRUSE: Ätiologie und Prophylaxe der Ruhr. in: Zeitschr. f. d. ärztl. Fortbild. Jena v. 1 1904 p. 339—345.

LESAGE, A.: Culture de l'amibe de la dysenterie des pays chaud. in: C. R. Acad. Sci. Paris v. 139 Nr. 26 1904 p. 1237—1239. [Entamöba histolytica.]

—: Note sur le mucus intestinal dans la dysenterie tropicale. in: Arch. gén. de méd. Paris v. 2 1904 p. 2177.

MILLETT, F. W.: Report on the Recent Foraminifera of the Malay Archipelago collected by Mr. A. Durrand, Part. XVI. in: Journ. roy. Microscop. Soc. 1904 Part. V p. 489—506 Taf. X. — Part. XVII (Conclusion) ibid. Part. VI 1904 p. 597—669 Taf. XI.

OLIVEIRA, O. DE: A dysenteria amebica na infancia. in: Brazil med. Rio de Janeiro v. 18 1904 p. 321, 331, 341.

PENARD, E.: Sur la décharge de la vésicule contractile dans l'Amoeba terricola. in: Revue Suisse de Zool. v. 12 Fasc. 3 1904 p. 657—662.

PREVER, P. L.: Osservazioni sopra alcune nuove Orbitoides. in: Atti Accad. Sci. Torino v. 39 1904 p. 981—988 1 Taf.

PROWAZEK, S.: Kernveränderungen in Myxomycetenplasmodien. in: Österr. bot. Zeitschr. Jahrg. 54 1904 Nr. 8 p. 278—281, 4 Textfig.

SCHLUMBERGER, C.: Quatrième Note sur les Orbitoïdes. in: Bull. Soc. géol. de France 4. sér. v. 4 1904 p. 119—135 Taf. 3—6.

SCHLUMBERGER, C. & P. CHOFFAT: Sur le genre Spirocyclina Munier-Chalmas et quelques autres genres du même auteur. in: Bull. Soc. géol. de France ser. 4 v. 4 1904 p. 358—368 Taf. 9—10.

SCHUBERT, R. J.: Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung der bei der ärarischen Tiefbohrung zu Wels durchteuften Schichten. in: Jahrb. geol. Reichsanst. Wien v. 53 1904 p. 385—422. [Foraminiferen.]

VAHLKAMPF, E.: Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährböden. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 H. 2 1904 p. 167—220.

VAUGHAN, J. C. S.: The use of izal in the treatment of tropical dysentery. in: Indian Med. Gaz. v. 39 1904 p. 361—365.

VERDUN: Quelques aperçus sur l'étiologie de la dysenterie. In: Echo méd. du nord Lille v. 8 1904 p. 385, 397, 409, 421.

VOLLBRACHT: [Mitteilung über einen Fall von Amöbenenteritis.] in: Mitteil. d. Gesellsch. f. inn. Med. u. Kinderheilk. in Wien v. 3 1904 p. 160—164. Vgl. auch: Wien. med. Wochenschr. v. 54 1904 p. 1129—1232.

II. Subkl.: *Heliozoa.*

III. Subkl.: *Radiolaria.*

FOWLER, G. H.: Notes on the Anatomy of Gazelletta. in: Quart. Journ. Microscop. Sci. N. S. Nr. 191 (v. 48 Part. 3) 1904 p. 483—488 3 Textfig.

IMMERMANN, F.: Die Tripyleen-Familie der Aulacanthiden der Plankton-Expedition. in: Ergebn. der Plankton-Expedition der Humboldt-Stiftung v. III L. h. 1904 92 S. 8 Taf.

POPOFSKY, A.: Die Acantharia der Plankton-Expedition. Teil I: Acanthometra. in: Ergebn. der Plankton-Expedition der Humboldt-Stiftung v. III 1904 158 S. 12 Taf.

II. Kl.: *Mastigophora.*

I. Subkl.: *Euflagellata.*

[Hierbei die Literatur über Trypanosomen-Krankheiten.]

BALDWIN, F. A.: Pathological anatomy of experimental Nagana. in: Journ. of Infect. Diseas. v. 1 Nr. 4 1904 p. 544—550.

BALFOUR, A.: Chrysoidin in Trypanosomiasis. in: Brit. med. Journ. Nr. 2295 1904 p. 1694.

BRAUER, A.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

British medical Association. Discussion of trypanosomiasis. [Vorträge von NABARRO, MANSON, SAMBON etc.] in: Brit. med. Journ. Nr. 2277 1904 p. 378—379.

BRODEN, A.: Les Trypanosomes des Grenouilles. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 9 H. 1 1905 p. 18—20 1 Taf.

BRUCE, D.: Discussion on trypanosomiasis. in: Brit. med. Journ. Nr. 2277 1904 p. 367—369.

—: Sleeping sickness in Uganda. in: Journ. Roy. Army Med. Corps London v. 3 1904 p. 17—41 4 Taf.

BRUMPT, E.: A propos de la Glossina Decorsei Brumpt. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 1904 Nr. 32 p. 430—432. [Trypanosomen.]

BUSQUET, P.: Des relations qui paraissent exister entre la trypanosomiase humaine, la fièvre dum-dum, le kala-azar et certaines formes de cachexie dite paludéenne. in: Gaz. hebd. d. Sci. méd. de Bordeaux v. 25 1904 p. 417.

—: De la trypanosomose fébrile de l'homme ou maladie de Dutton. in: Gaz. hebd. de Sci. méd. de Bordeaux v. 25 1904 p. 347, 357, 368.

BYLOFF, K.: Ein Beitrag zur Kenntnis der Rattentrypanosomen. in: Sitz.-Ber. Akad. Wien, math.-naturw. Kl. Abt. 3 v. 113 1904 p. 111—138 2 Taf.

CASTELLANI, A.: Sleeping sickness. in: Brit. med. Journ. 1904 v. 2 p. 71.

CAZALBOU, L.: Les trypanosomiases au Soudan français. in: Rec. de méd. vét. v. 81 1904 p. 615—613.

CHICHESTER, C. R.: Arsenic in the treatment of trypanosomiasis in cattle in Nigeria. in: Journ. trop. Med. v. 7 1904 p. 196.

CHRISTY, C.: The cerebro-spinal fluid in sleeping sickness (Trypanosomiasis): 104 lumbar punctures. in: Brit. med. Journ. Nr. 2277 1904 p. 372—378.

—: Sleeping sickness (Trypanosomiasis): the prevention of its spread and the prophylaxis. in: Brit. med. Journ. 1904 p. 1456—1457.

DUMORET, M.: La maladie de sommeil. in: La nouvelle Rev. Paris n. s. v. 30 1904 p. 533—538.

DURANT & HOLMES: A trypanosoma found in blood of cattle in India. in: Journ. Comp. Path. & Therap. v. 17 1904 p. 209 1 Taf.

DUTTON, J. E., TODD, J. L. & C. CHRISTY: Human trypanosomiasis and its relation to Congo sleeping sickness. in: Brit. med. Journ. Nr. 2277 1904 p. 369 —372.

ELMASSIAN, M. & E. MIGNONE: Mal de caderas chez les animaux domestiques et sauvages (épidémies paralèles). in: Ann. de l'Inst. Pasteur v. 18 1904 p. 587—589.

FOA, A.: Ricerche sulla riproduzione dei Flagellati II. Processo di divisione delle Triconinfe. (Nota preliminare.) in: Rendic. R. Accad. dei Lincei. Cl. di sci. fis., mat. e. nat. v. 13 2. sem. ser. 5 fasc. 12 1904 (Dicembre) p. 618 —625 5 Textfig.

Gorkom, W. J. van: The spread of sleeping sickness. in: Janus Ann. 9 1904 p. 565—574.

Greig, E. D. W. & A. C. H. Gray: Note on the lymphatic glands in sleeping sickness. in: Proc. Roy. Soc. London v. 73 1904 p. 455.

Head, A. S.: Tsetse-fly disease among mules in the Sudan. in: Journ. Comp. Path. & Therap. v. 17 1904 p. 206—208.

Holmes, J. D. E.: Evolntion of the Trypanosoma evansi. in: Journ. of Comp. Path. & Therap. v. 12 1904 p. 210—214 2 Taf.

Jakimoff, W. L.: Zur Biologie der Trypanosomen. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II (Ref.) v. 35 Nr. 17/18 1904 p. 533. [Orig.-Referat a. d. Mikrobiol. Gesellsch. zu St. Petersburg.]

—: Zur Biologie der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 5 1904 p. 668—678.

Jarvis, C.: Sleeping sickness. in: Internat. Clin. 14. ser. v. 2 1904 p. 37—44.

Jennings, H. S.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Koch, R.: Über die Trypanosomenkrankheiten. in: Dentsch. med. Wochenschr. 1904 Nr. 47 p. 1705—1711 5 Textfig.

Krueger: Bericht über die Schlafkrankheit in Togo. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 8 1904 p. 479—506 3 Textfig.

Laveran, A.: Trypanoplasme et Trypanosome du Vairon. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 Nr. 28 1904 p. 250—251.

—: Les Trypanosomes dans l'Ouest africain français. in: C. R. Acad. Sci. Paris v. 139 1904 p. 658—662.

Laveran, A. & F. Mesnil: Infections naturelles de rats blancs par Trypanosoma Lewisi. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 Nr. 28 1904 p. 247—248.

Lebailly, C.: Sur quelques hémoflagellés des téléostéens marins. in: C. R. Ac. Sci. Paris v. 139 1904 p. 576.

Léger, L.: Sur un nouveau Flagellé parasite des Tabanides. in: C. R. Soc. Biol. v. 57 Nr. 37 1904 p. 613—615 6 Textfig.

—: Sur les affinités de l'Herpetomonas subulata et la phylogénie des trypanosomes. in: C. R. Soc. Biol. v. 57 Nr. 37 1904 p. 615—617.

—: Sur les Hémoflagellés du Cobitis barbatula, I. Trypanosoma barbatulae n. sp. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 1904 p. 344—345.

—: Trypanoplasma varium n. sp., parasite du sang de Cobitis barbatula L. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 1904 p. 345—347.

Lingard, A.: The Trypanosoma of Dourine and its life history. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 4 1904 p. 537—547.

—: A short account of the various Trypanosomata found to date in India in the blood of some of the lower animals and fish. in: Indian. med. Gaz. v. 39 Nr. 12 1904 p. 445—447.

MacNeal, W. J.: The life-history of trypanosoma lewisi and trypanosoma brucei. in: Journ. of Infect. Diseas. v. 1 Nr. 4 1904 p. 517—543 Taf. 11—17.

—: An improved medium for cultivating trypanosoma brucei. in: VI. Ann. Rep. of the Michigan Ac. of Sci. 1904 p. 173—178.

Markl: Beitrag zur Kenntnis der Naganainfektion bei Meerschweinchen. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 4 1904 p. 530—537.

Moore, E. J.: Some observations pointing to an intracorpuscular stage of development in the trypanosome. in: Lancet 1904 v. 2 p. 950.

—: On the beneficial effects of sodium arseniate employed hypodermically in tsetse-fly disease in cattle. in: Lancet 1904 v. 2 p. 15.

Musgrave, W. E. & M. T. Clegg: Report on trypanosoma and trypanosomiasis, with special reference to surra, on the Philippine Islands. in: Rep. Superintend. Govt. Laborat. Philippine Isl. 1903, Washington 1904 p. 419—556 24 Taf.

Neporojny, S. D. & W. L. Jakimoff: Über einige pathologisch-anatomische Veränderungen bei experimentellen Trypanosomosen. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II (Ref.) v. 35 Nr. 15/16 1904 S. 467. [Orig.-Referat a. d. Mikrobiol. Gesellsch. zu St. Petersburg.]

Nissle, A.: Zur Kenntnis der Nagana- und Rattentrypanosomen. in: Hygien. Rundschau v. 16 1904 Nr. 21 p. 1039—1041.

Nocht, B.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Novy, F. G. & W. J. MacNeal: Trypanosomes and bird malaria. (Presented to the Society for Experimental Biology and Medicine, October 19, 1904 by Gary N. Calkins.) in: Amer. Med. v. 8 Nr. 22 1904 p. 932—934.

Novy, F. G., MacNeal, W. J. & C. B. Hare: The cultivation of the surra trypanosome of the Philippines. in: Tr. Assoc. Am. Physicians v. 19 1904 p. 235—246.

Penning, C. A.: Les Trypanosomes aux Indes Neerlandaires. in: Janus Ann. 9 1904 p. 514—525, p. 620—626.

Renner, W.: Trypanosomiasis or sleeping sickness in Sierra Leone. in: Journ. of trop. Med. v. 7 1904 p. 349—350.

Rosenfeld, A.: Über die Bedeutung der Flagellaten im Magen und Darm des Menschen. in: Deutsch. med. Wochenschr. 1904 Nr. 47.

Roujas, H.: La maladie du sommeil. Paris 1904 (Naud.) 8° 79 p.

Scheaffel, A.: Notizen zur Kenntnis der Chrysomonadinae. in: Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch. v. 22 1904 p. 439—444.

Schilling, A.: Über die Tsetsekrankheit oder Nagana. in: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte v. 21 H. 3 1904 p. 476—536.

Sergent, Ed. et Ét.: cf. sub Haemosporidia.

Tabuteau, G.: Les maladies produites par les trypanosomes. in: Arch. méd. d'Angers v. 8 1904 p. 505—511.

Vallée & Panisset: Sur les rapports du Surra et de la Mbori. in: C. R. Ac. Sci. Paris v. 139 Nr. 21 p. 901—903 (avec Note de Laveran p. 903).

Wart, R. M. van: A note on trypanosoma, with demonstrations of specimens. in: New Orleans Med. & Surg. Journ. v. 57 1904 p. 163—165.

Wendelstadt, H.: Über die Wirkung von Malachitgrün und anderen verschiedenartigen Stoffen gegen Naganatrypanosomen bei weißen Ratten. in: Deutsch. med. Wocheuschr. 1904 Nr. 47.

Zabel, E.: Flagellaten im Magen. in: Wien. klin. Wochenschr. Jabrg. 17 1904 p. 1007—1011 4 Textfig.

II. Subkl.: *Choanoflagellata.*

III. Subkl.: *Cystoflagellata.*

IV. Subkl.: *Dinoflagellata.*

Zacharias, O.: Beobachtungen über das Leuchtvermögen von Ceratium tripos (Müll.). in: Biol. Centralbl. v. 25 Nr. 1 p. 20—30.

III. Kl.: *Sporozoa.*

I. Subkl.: *Telosporidia.*

I. Ordn.: *Gregarinida.*

II. Ordn.: *Coccidiida.*

Brasil, L.: Snr nne Coccidie nonvelle parasite d'nn Cirratulien. in: C. R. Acad. Sci. Paris v. 139 1904 p. 645.

Brault, A. & M. Loeper: cf. snb Protozoa. Allgemeines.

III. Ord.: *Haemosporidiida.*

[Hier die Literatnr über Malaria, Piroplasmose und ähnliche Krankheiten.]

Adie, J. R.: Lemna minor as a preventive against mosquitoes. in: Indian med. Gaz. v. 39 Nr. 6 1904 p. 207—208.

Abellano, N. R. de: Profilaxis de la malaria. in: Gac. méd. Mexiko 2. sér. v. 4 1904 p. 115—121.

Atkinson, J. M.: Malarial colitis simnlating appendicitis — Malaria coma; premature birth; death. — Malignant malaria with obstructive janndice. in: Select. Colon. Med. Rep. for 1901—02 London 1904 p. 148, 150.

Baccelli, G.: L'infezione da malaria. in: Gazz. med. di Roma v. 30 1904 p. 393, 421.

Barker, L. F.: Italy and the great antimalarial campaign. in: Jonrn. Amer. med. assoc. v. 53 Nr. 8 1904 p. 547—549.

Baudouin, M.: Fièvre intermittente et monstiques en Vendée: Chussons et Chessaie. in: Gaz. méd. de Paris 12. sér. v. 4 1904 p. 385.

Beck, E. E.: Malaria haematuria, haemoglobinnria (also called black water fever, black janndice, swamp fever, etc.). in: Trans. Arkansas Med. Soc. v. 28 1904 p. 154—158.

Berg: Über Chininprophylaxe in Südwest-Afrika. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 8 1904 p. 377—409.

Bernadac: Du palndisme révélé chez l'enfant à l'occasion d'une maladie aignë. Montpellier 1904 8°. [Thèse.]

Bertarelli, E.: La profilassi antimalarica nel sobborgo Bertolla in Torino. in: Riv. d'igien. e san. pnbbl. v. 15 1904 p. 670—684.

—: La profilassi antimalarica nel sobborgo Bertolla in Torino. in: Scritti med. in onore del Prof. Dr. C. Bozzolo Torino 1904 8° p. 69—80.

Billet, A.: De l'incubation dans le paludisme. in: Bull. méd. de l'Algérie 1904 p. 285—292.

Bindi, F.: Snlla cosidetta malaria larvata. in: Clin med. Pisa v. 10 1904 p. 319—322.

Blake, W. F.: Pernicions malarial fever. in: Calif. State Jonrn. Med. v. 2 1904 p. 322.

Blair, M. C.: Blackwater fever. in: Caledon. Med. Jonrn. n. s. v. 6 1904/05 p. 45—58.

—: Salts of potassinm as a prophylactic for blackwater fever. in: Journ. Trop. Med. v. 7 1904 p. 271.

Bordiga, O.: L'infezione malarica ed il problema agrario nell' Italia meridionale. in: Atti R. Istit. d'incoraggiamento di Napoli ser. 5 v. 5 1904 Nr. 2.

Bowhill, T.: Some Stock Diseases of the Eastern Coastal Districts. in: Agric. Jonrn. Cape Good Hope v. 25 1904 p. 331—337.

Busquet, P.: cf. sub Enflagellata.

Cadwallader, R.: Malaria. in: Med. Record New York v. 46 1904 p. 450—455.

Cardamitis, J. P.: Considérations snr le livre intitulé: Instruction ponr la prophylaxie des fièvres palustres, de M. Const. Savas. in: Grèce méd. Syra v. 6 1904 p. 25, 29.

Carvalho de Figueiredo, A.: Da existencia do Anopheles bifurcatns em Portugal. in: Med. contemp. Lisbon 2. ser. v. 6 1904 p. 184, 223.

Caussade, G.: Fièvre à type intermittent observée chez denx petites filles. in: Bull. et mém. Soc. méd. de hôp. de Paris 3. sér. v. 21 1904 p. 1034—1042.

Celli, A.: La malaria in Italia durante il 1903; ricerche epidemiologiche e profilattiche. in: Ann. d'igiene sper. n. s. v. 14 1904 p. 327—364 2 Taf.

—: Sesta relazione annuale della Società per gli stndi della malaria. in: Giorn. d. r. Soc. ital. d'igien. v. 26 1904 p. 339—347.

Chauvelot, E.: Les Babésioses. Paris 1904 8° [de Rudeval] 95 S. (Thèse).

Cheinisse, L.: A criticism of the mosquito theory of infection in malaria and yellow fever. in: Med. Press & Circ. London n. s. v. 78 1904 p. 33—35.

Christy, C.: The Etiology of Malaria. in: Lancet 1904 v. II Nr. 25 p. 1750—1751. [Erwidernng gegen Bacelli.]

Clark, S. F.: On haemorrhage from the bowel in malarial disease. in: Journ. Roy. Army Med. Corps v. 3 1904 p. 134—137.

Craig, C. F.: Observations npon latent and masked malarial infections, with an analysis of 395 cases. in: Am. Med. v. 8 1904 p. 757—761.

Crébassol: Syndrome anémie perniciense dans le palndisme. Montpellier 1904 8°. [Thèse.]

Cropper, J.: An easy method of obtaining exflagellation of the malarial parasite. in: Lancet 1904 v. 2 p. 919.

Devaux, E.: Contribution à l'étnde des accès pernicienx palnstres. in: Ann. d'hyg. et de méd. colon. v. 7 Nr. 4 1904 p. 526—528.

Dionisi, A.: Die anatomische Forschnng in der Ätiologie der Malaria nnd die Leistungen der Italiener in derselben. Generalübersicht. in: Folia haematol. v. 1 Nr. 9 1904 p. 525—534.

Draper, T. J.: Malarial hematnria or hemoglobinuria. in: Tr. Arkansas Med. Soc. 1904 p. 194—198, 205—215.

Dunbar, A. W.: Report on cases of malarial fever occurring on board the U. S. S. Wyoming. in: Rep. Surg.-Gen. U. S. Navy 1904 p. 243.

Duncan, A.: The prophylaxis of malaria. in: Jonrn. Trop. Med. v. 7 1904 p. 256.

Duque Estrada, H.: Sobre une novo methodo de espalhamento de sangue para pesqniza do hematozoaires de Laveran. in: Gaz. clin. S. Paulo v. 2 1904 p. 328.

Dyé, L.: cf. snb Protozoa, Allgemeines.

Ferreira de Castro: Prophylaxia do sezonismo pelas lenticnlas anti-malaricas. in: Med. mod. Porto v. 11 1904 p. 213—215.

Fleury, C. M.: The treatment of malarial fever by injections of qninine. in: Journ. Roy. Army Med. Corps v. 3 1904 p. 342—355.

Ford, J. H.: The antitoxin treatment of tertian malarial infections. in: Med. Record New York v. 66 Nr. 26 1904 p. 1001—1007.

Galet, O. & G. Rubbens: Cirrhose palndéenne et éosinophilie. in: Clinique Bruxelles v. 18 1904 p. 81—88.

Gazet du Chatelier, J.: Fièvre de la dentition et ses rapports avec la fièvre intermittente. Montpellier 1904 8° 66 p.

Giles, G. M.: The antimalarial operations in Miau Mir. in: Journ. Roy. Army Med. Corps v. 3 1904 p. 131—133.

Giemsa, G.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Gros, H.: Paludisme et ascarides. in: Le Caducée Paris v. 4 1904 p. 258.

—: La prophylaxie du paludisme par la quinine. in: Bull. méd. do l'Algerie Alger v. 15 1904 p. 353—360.

—: La marche de l'eudémo-épidémie palustre en Algérie. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 8 1904 p. 552—563.

Haan, J. de: Die Nieren beim Schwarzwasserfieber. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 9 H. 1 1905 p. 22—31.

Hadra, F.: Case of pernicious malarial fever. comatose type, recovery. in: Journ. Assoc. Mil. Surg. U. S. v. 15 1904 p. 140—143.

Harford, C. F.: The symptoms and treatment of malaria. in: Climate London v. 5 1904 p. 101, 131, 145.

Haynie, W. R.: Quinine in malarial hematuria and hemoglobinuria. in: South Pract. Nashville v. 26 1904 p. 477.

Henry, A.: Les théories actuelles sur le paludisme. Paris 1904 (A. Maloine) 8° 25 p.

—: Les théories actuelles sur le paludisme. in: Rev. méd. de l'Afrique du Nord Alger v. 7 1904 p. 340—348.

Hirschberg, L. R.: An Anopheles Mosquito which does not transmit Malaria. in: Bull. of the Johns Hopkins Hospital Nr. 155 (v. 15) 1904.

Holmes, L. E.: Latent malaria, as seen in the mountains. in: Amer. Med. Philadelphia v. 8 1904 p. 415—417.

Hooton, A.: Notes on the destruction of mosquitoes in Bijapur. in: Indian med. Gaz. v. 39 Nr. 6 1904 p. 205—207.

Huntington, E. O.: Report of a case of malarial sciatica. in: Journ. Assoc. Mil. Surg. U. S. Carlisle v. 15 1904 p. 197.

Jacob: Natur- oder Kunstheilung, insbesondere Verhütung und Behandlung der Malaria. in: Balneol. Centr. Zeit. v. 5 1904 p. 149, 157.

James, S. P. & Glen Liston: A monograph of the Anopheles mosquitoes of India, Calcutta 1904 (Thacker, Spink & Co.) 4° 30 Taf. Pr. 24 S.

Jancsó, N.: Untersuchungen über die Weiterentwicklung der Malariaparasiten in den Anophelesarten. in: Pest. med.-chir. Presse v. 40 1904 p. 872.

—: Zur Frage der Infektion der Anopheles claviger mit Malariaparasiten bei niederer Temperatur. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 36 p. 624—629.

Jenkins, J. S.: Hemorrhagic malarial toxaemia. in: Tr. Arkansas Med. Soc. 1904 p. 198—215.

Jobling, J. W. & P. G. Wooley: Texas Fever in the Philippine Islands and in Far East. in: Bulletin of the Entomological Divis. of Biol. Labor. Manila Nr. II 1904. Ref. in Medical Record New York v. 66 Nr. 21 p. 822.

Kanellis, S.: Quelques réflexions par l'étiologie du paludisme. in: Grèce médic. v. 6 1904 p. 37; cf. auch in: Progrès méd. Paris 3. sér. v. 20 1904 p. 217.

Koch, R.: 4. Bericht über das Rhodesische Rotwasser- oder „Afrikanische Küstenfieber". in: Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. v. 30 H. 6 1904 p. 586—598.

Krauss, W.: Malarial hemoglobinuria. in: Internat. Clin. Philadelphia ser. 14 v. 2 1904 p. 340—348.

Kubasoff, P. J.: O mikrobie febris quartanae. in: Sibirsk. Vrach. Viedom. v. 2 1904 p. 217—223. (Russisch.)

Lafond-Grellety: Le méthylarsinate disodique dans la cachexie palustre chez un enfant de dix-sept mois. in: Gaz. hebd. des sci. méd. de Bordeaux v. 25 1904 p. 442—445.

Landauer, S. C.: Malarial fever, unusual form. in: New Orleans Med. & Surg. Journ. v. 57 1904 p. 238—245.

Laveran, A.: Sur les culicides du Haut-Tonkin. in: C. R. Soc. Biol. v. 56 Nr. 23 1904 p. 1070—1072.

Legrain, E.: Moustiques et fièvres intermittentes en 1904. in: Médecin (Bruxelles) v. 14 1904 p. 347.

Leon, N.: Comment se fait chez l'homme l'inoculation du paludisme par les Anophèles? in: Bull. Soc. d. Méd. et Natur. de Jassy. v. 18 Nr. 4—5 1904 p. 97—98 1 Textfig.

Le Roy des Barres e Gaide: Le rôle du paludisme en chirurgie et en obstétrique. in: Gaz. d. hôp. v. 77 1904 p. 961, 969.

Lesieur, C., Recherche directe des microbes dans le sang; procédé de la sangsue. in: Bull. et mém. Soc. de méd. d. hôp. des Paris 3. sér. v. 21 1904 p. 827—829.

Liehm, R.: Beitrag zur Kenntnis der Malaria. in: Wien. klin. Wochenschr. v. 17 1904 p. 1103—1113.

Lounsbury, C. P.: Ticks and malignant jaundice of the dog. in: Journ. of comp. pathol. & therap. v. 17 1904 p. 113—129.

Mansfield, C. D.: Remittent fever. in: Louisville Month. Journ. Med. & Surg. v. 9 1904—05 p. 113.

Marchoux: Fièvre hémoglobinurique et quinine. in: Le Caducée v. 4 1904 p. 215.

Mariotti-Bianchi, G. B.: La malaria nella guarnigione di Roma nel biennio 1902—03 in: Giorn. med. d. r. esercito Roma v. 52 1904 p. 504.

Matoni, F.: Le polinevriti malariche. in: Med. ital. v. 2 1904 p. 511—520.

Mc Gehee, J. L.: Combined typhoid and malarial fever. in: Memphis M. Month. v. 24 1904 p. 353—357.

Miller, E. E. & A. K. Trileski: Über einen Fall von Masseninfektion an Malaria durch Vermittlung des Trinkwassers, in: Med. Woche v. 5 1904 p. 267—270.

Moodliar, N. V.: A case of malaria. in: Indian Lancet Calcutta v. 24 1904 p. 102.

Mori, A.: Zur Prophylaxe der Malaria. in: Allg. med. Centralzeit. v. 73 1904 p. 811—814.

Movquet: Étude sur les hépatites du cheval. d'origine palustre, considérées dans nos posessions soudanaises. in: Bull. Soc. centr. de méd. vét. Paris v. 58 1904 p. 402—409.

Mühlens, P.: Über Malariaverbreitung in Neu-Pommern und über Malariaverhütung an Bord eines daselbst stationierten Kriegsschiffes. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 8 1904 p. 512—516.

Nanjunda, M. C.: Guaiaquin: a Remedy suggested for Piroplasmosis, Kala-Azar and other allied Fevers. in: Indian med. Gaz. v. 39 Nr. 12 1904 p. 455—456.

Nicolle, C.: Un essai de campagne antipaludique en Tunisie (Oued-Zargua, Pont-de-Trajan, 1903). in: Rev. méd. de Normandie Rouen v. 4 1904 p. 281, 307, 318, 340.

Pendleton, A. S.: Some observations anent malaria, with special reference to the disease as complicating enteric fever. in: Therap. Gaz. Detroit 3. ser. v. 20 1904 p. 580—583.

Pérez, Noguera, E.: Un caso de paludismo crónico rebelde curado con el azul de metileno. in: Corresp. méd. Madrid v. 39 1904 p. 221, 242.

Péricaud, Recherches sur la spécificité d'un piroplasme dans l'anémie des mentes. in: Bull. Soc. centr. de méd. vét. v. 58 1904 p. 513—515.

Powell, J. L.: Are there other causes of Malaria than mosquitos. in: Medic. Record New York v. 66 Nr. 21 1904 p. 808—809.

Premananda, D.: The effect of creosote rubbing upon high temperature in remittent fever. in: Indian med. Gaz. v. 39 1904 p. 339.

Pressat, A.: Prophylaxie du paludisme dans l'isthme de Suez. in: Presse méd. Paris v. 2 1904 p. 482—484.

Quesada Romero, P.: Paludismo infantil. in: Rev. méd. de Bogotá 1904 p. 322—326.

Raymond, V.: Action des douches locales sur l'hypertrophie palustre du foie et de la rate, traités à Vichy. in: Arch. de méd. et pharm. mil. v. 44 1904 p. 124—132.

Raymondaud, E.: À propos de la piroplasmose. in: Limousin méd. v. 28 Limoges 1904 p. 113—115.

Reinhardt, L.: Über Malaria, deren Verbreitung und Bekämpfung nach den Ergebnissen der neuesten Forschung. in: Corr.-Bl. f. schweiz. Ärzte v. 34 1904 p. 476—478.

Reinhardt, G. F.: Malarial nephritis. in: Californ. State J. M. San Franzisco v. 2 1904 p. 215.

Ribeiro Vianna, Notas de contribuição ao estudo das formas clinicas do paludismo na Bahia. in: Gaz. med. da Bahia v. 35 1904 p. 481—485.

Robertson, W. African coast fever. in: Journ. Comp. Path. & Therap. v. 17 1904 p. 214—221 1 Taf.

Roth, E.: Malaria, 1828 und 1903. in: Med. Woche v. 5 1904 p. 235.

Sabisiva Pillai, A case of severe form of malarial anaemia treated with adrenalin chloride and normal saline solution. in: Indian med. Gaz. v. 39 1904 p. 294—296.

Schmidt, A.: Die Zeckenkrankheit der Rinder, Haemoglobinaemia ixodioplasmatica boum in Deutsch-Englisch-Ostafrika und Uganda. Berlin 1904 (L. Schumacher) 8° 64 p.

Sergent, Ed. & Ét.: Evolution des hematozoaires de l'Athene noctua d'après F. Schaudinn; recherches expérimentales. in: Bull. d. VI. internat. Zool.-Kongr. Bern 1904 Nr. 5, 7.

Smith, W. L.: Malarial hematuria. in: Med. Recorder, Shreveport v. 1 1904 p. 550—554.

Soulié, H.: Sur une hémogregarine de Psammodromus algirus. in: C. R. Acad. Sci. Paris, v. 193 1904 p. 371—373.

Spriggs, M. L.: The treatment of anemia with spezial reference to malarial cachexia, report of cases. in: Med. Summary Philadelphia v. 26 1904—05 p. 131—133.

Sterrett, R. M.: Treatment of malaria. in: Virginia Med. Semi-Month. Richmond v. 9 1904 p. 267.

Stephens, J. W. W.: The prophylaxis of malaria. in: Journ. Trop. Med. v. 7 1904 p. 253.

Street, L. A. B.: An incomplete report of two cases of chronic malarial cachexia. in: New York med. Journ. v. 80 1904 p. 917—919.

Theiler, A.: East coast Fever. in: Journ. Roy Army Med. Corps 1904 (December) p. 1—22. [Separatabdruck.]

—: The Piroplasma bigeminum of the immun ox. in: Journ. Roy Army Med. Corps 1904 (November) p. 1—20 1 Taf. [Separatabdruck.]

—: Beitrag zur Frage der Immunität bei Piroplasmosis des Hundes. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. 1 (Orig.) v. 37 H. 3 1904 p. 401—405.

Theiler, A. & S. Stockman: Some observations and experiments in connection with tropical bovine piroplasmosis (East Coast fever or Rhodesian red water). in: Journ. Comp. Path. & Therap. v. 17 1904 p. 193—202.

Waugh, W. F.: Modern views concerning malaria. in: Alkaloid. Clin. Chicago v. 11 1904 p. 1015, 1110.

Wendland: Über Chininprophylaxe in Neuguinea. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 8 1904 p. 431—454.

Westphal, G.: Malarial cystitis. in: New Orleans Med. & Surg. Journ. v. 57 1904 —05 p. 1—3.

Williamson, G. A.: Report on malaria in Cyprus. in: Select. Colon. Med. Rep. 1901—02, London 1904, p. 79—102.

Zeri, A.: Sindrome leucoanemica in un malarico. in: Riforma medic. v. 20 1904 p. 925—933.

II. Subkl.: ***Neosporidia.***

I. Ordn.: *Myxosporidia.*

Dyé, L.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Fuhrmann, A.: Über eine Krankheit der weiblichen Geschlechtsorgane des Hechtes. in: Allgem. Fischereiztg. 1904 Nr. 24 p. 469—471. [Henneguya psorospermica var. oviperda Cohn.]

Hesse, E.: Études sur les Microsporidies. in: Ann. de l'Univ. de Grenoble v. 16 Nr. 1 1904 4 p. [Sep.-Abdruck.]

—: Thelohania Legeri n. sp., Microsporidie nouvelle parasite des larves d'Anopheles maculipennis Meig. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 Nr. 36 1904 p. 570 —571. — Sur le développement de Thelohania Legeri Hesse. Ibid. p. 571 —572 10 Textfig.

Mazzarelli, G.: La mortalità degli Agoni nel lago di Lugano. in: L'Aquicoltura Lombarda Ann. VI 1904 Nr. 6, 7 p. 3—13. [Ceratomyxa.]

II. Ordn.: *Sarcosporidia*

IV. Kl.: ***Infusoria.***

I. Subkl.: ***Ciliata.***

Barratt, J. O. W.: Die Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Paramaecien. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. v. 4 1904 p. 438—484 1 Textfig.

—: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Birukoff, B.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Dreyer, G.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Fauré-Fremiet, E.: Sur l'appareil contractile des Vorticellidae. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 Nr. 36 1904 p. 575—576.

—: Sur la formation et la structure de la coque des Vaginicolinae. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 Nr. 35, 1904 p. 551—552.

—: Sur la structure du pédoncule des Vorticellidae. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 Nr. 34 1904 p. 506—508.

—: Epuration et rajeunissement chez les Vorticellidae. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 57 1904 Nr. 32 p. 428—430.

—: Note sur un groupe nouveau d'opercularia. in: Arch. d'anat. micr. v. 7 1904/05 p. 181—197.

Gonder, R.: Beiträge zur Kenntnis der Kernverhältnisse bei den in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien. in: Arch. f. Protistenk. v. 5 1904 p. 248—262 Taf. 9—11.

Hertel, E.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Hertwig, R.: Über Konjugation von Dileptus gigas. in: Sitz.-Ber. Ges. Morph. Physiol. München 1904 H. 1 S. 1—3. (Sep.-Abz.)

Jennings, H. S.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

—: The Behavior of Paramaecium. Additional features and general relations. in: Journ. of compar. Neurology and Psychology v. 14 Nr. 6 1904 p. 441—510.

Jodlbauer, B.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Léger, L. & O. Dubosq: Notes sur les Infusoires endoparasites. II. Anoplophrya Brasili Léger et Dubosq. III. Opalina Saturnalis Léger et Dubosq. in: Arch. de Zool. expérim. Ser. 4 v. 2 Fasc. 3 1904 p. 337—352 Taf. 14 3 Textfig.

Mauro, S. di: Sopra un nuovo Infusorio ciliato parassita dello Strongylocentrotus lividus e dello Sphaerechinus granularis (Anophrys echini n. sp.). in: Bollet. dell' Accad. Giovenia di sc. nat. in Catania fasc. 81 1904 p. 13—20 3 Textfig.

Sabrazès, J.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

Statkewitsch, P.: cf. sub Protozoa, Allgemeines.

II. Subkl.: ***Suctoria.***

Protisten von fraglicher systematischer Stellung.

Ellermann, V.: Über die Kultur der fusiformen Bazillen. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 5 1904 p. 729—730.

Martoglio, T. & M. Carpano: Spirillosi ovina. in: Ann. d'igiene sperim. v. 14 n. s. Fasc. 4 1904 p. 577—582 Taf. 6.

Ross, H. & A. D. Milne: Tick fever. in: Brit. med. Journ. 1904 p. 1453—1454. (Spirillose.)

Smith, F. & S. G. Peill: A spirillum in an acute tropical ulcer at Sierra Leone. in: Journ. Roy. Army Med. Corps London v. 3 1904 p. 293.

Literatur über die sog. Leishman-Donovan-Körper.

(Fraglich, ob zu den Hämosporidien oder Trypanosomen gehörig.)

Aschoff, L.: Demonstration eines Falles von Kala-azar. in: Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. v. 15 1904 p. 537.

—: Demonstration von Präparaten eines Falles von Kala-azar. in: Verh. d. Deutsch. path. Ges. v. 7 1904 p. 81.

Bosquet, P.: cf. sub Enflagellata.

Castellani, A.: Leishman-Donovan bodies in Ceylon. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. v. 8 1904 p. 464—466.

Marzinowsky, J. E. & S. L. Bogroff: Demonstration eines Ausstrichpräparates der Granulationen am Boden eines Penegeschwüres eines Perserknaben. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II (Ref.) v. 35 Nr. 17/18 1904 p. 534. [Orig.-Referat a. d. Mikrobiol. Gesellsch. zu St. Petersburg.]

— —: Zur Ätiologie der Orientbeule (bonton d'Orient). in: Virchow's Arch. f. pathol. Anat. v. 178 1904 H. 1 p. 112—123 1 Taf.

Mesnil, F.: Le protozoaire du bouton d'Orient. in: Bull. d. VI. internat. Zool.-Kongr. Bern 1904 Nr. 5, 6.

Rogers, L.: On the Development of flagellated Organisms (Trypanosomes) from the Spleen Protozöic Parasites of Cachexial Fevers and Kala-Azar. in: Quart. Journ. Microscop. Sci. N. S. Nr. 191 (v. 48 Part 3) 1904 p. 367—378 Taf. 25.

Pseudo-Protozoen?

(Hier Literatur über die fraglichen Erreger der Vaccine, Variola, Tollwut, der perniciösen Geschwülste etc., soweit sie von den Autoren für Protozoen gehalten werden.)

Bertarelli, E.: Über die Wege, auf denen das Wutvirus zu den Speicheldrüsen des Hundes gelangt. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 2 1904 p. 213—221.

Bertarelli, E. & G. Volpino: Experimentelle Untersuchungen über die Wut. II. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 1 1904 p. 51—58.

Borrel, A.: Sur les inclusions de l'Épithélioma contagieux des oiseaux (molluscum contagiosum). in: C. R. Soc. Biol. v. 57 sér. 37 1904 p. 642—643.

Bosc, É.: La clavelée ou variole ovine. Contribution à l'étude des maladies varioliques et des épithéliomes parasitaires. Paris 1904 (A. Maloine) 8° 172 p.

Bosc, F. J.: Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires) II. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 1 1904 p. 39—48, [Fortsetzung] H. 2 p. 195—213 [Schluß] 2 Taf.

Eberle, H. A.: The Plasmoeba of Dengue; a Brief Description of the Earlier Phases of its Plasmic Characteristics. in: Boston Med. & Surg. Journ. 1902 (Dezember). (cit. nach Med. Record v. 66 1904 Nr. 27 p. 1064.]

Hoffmann, R.: Gregarinen oder Plasmazellen? (Zu dem Artikel: Über einen Befund von protozoenartigen Gebilden in den Organen eines hereditärluetischen Fötus von Dr. Jesionek u. Dr. Kiolemenoglou.) in: Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 51 1904 Nr. 47 p. 2095.

Jesionek & Kiolemenoglou: Über einen Befund von protozoënartigen Gebilden in den Organen eines hereditär-luetischen Fötus. in: Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 51 1904 Nr. 43 p. 1905—1907.

De Korté, W. E.: The Parasites of small-pox, vaccinia and varicella. in: Lancet 1904 v. II Nr. 26 (Dezember) p. 1776—1778.

Ladame, Ch.: Un nouveau parasite du cancer, le corpuscule de Feinborg. [Thèse.] Lausanne 1904 8° 52 p.

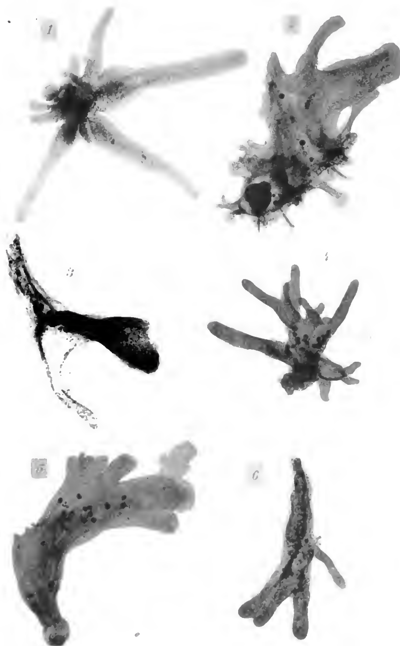
LUZZANI, L.: Nachweisung des spezifischen Parasiten in einem Falle von Tollwut beim Menschen. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 36 1904 p. 540—545 1 Taf.

RIBBERT: Protozoenähnliche Zellen in der Niere eines syphilitischen Neugeborenen und in der Parotis von Kinder. in: Centralbl. f. pathol. Anat. 1904 Nr. 23.

SCHÜLLER, M.: Über die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen. in: Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I (Orig.) v. 37 H. 4 1904 p. 547—566 1 Taf.

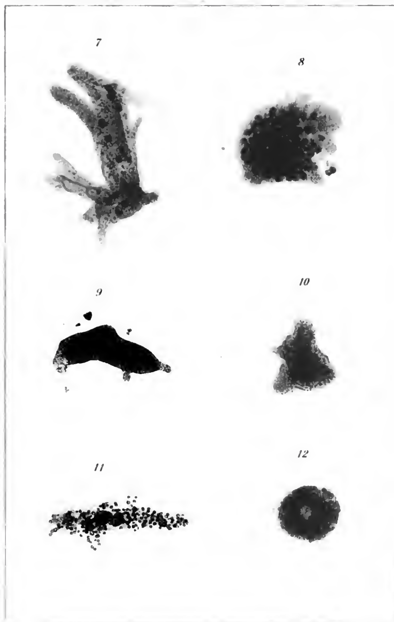
STILES, C. W.: Preliminary report upon a Zoological investigation into the cause, transmission, and source of the so-called spotted fever of the Rocky Mountains. in: Publ. Health Rep. U. S. Mar. Hosp. Serv. Washington v. 19 1904 p. 1649.

Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a S.



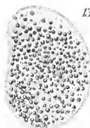
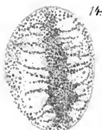
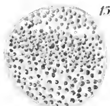
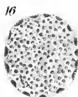
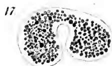
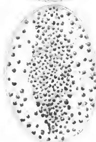
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Reproduktion von J. B. Obernetter, München



Gustav Fischer [illegible]

[illegible] Jena

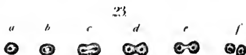

13.

14.

15.

16

17


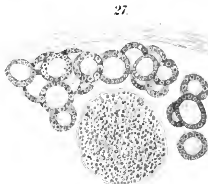
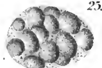
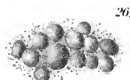
18

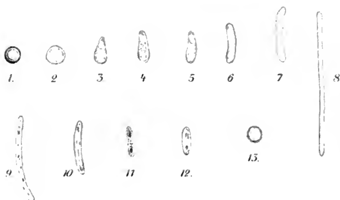
19

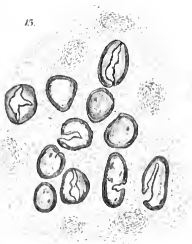
20

21.

22.

23.
a
b
c
d
e
f

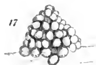
24.

27.

25.

26.



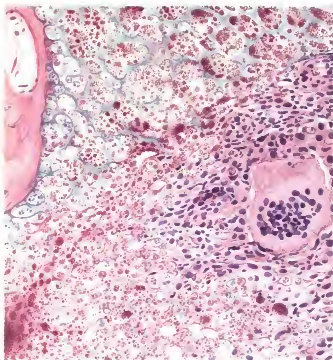


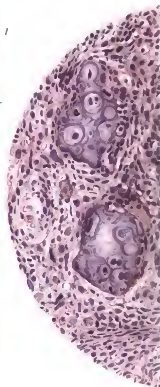




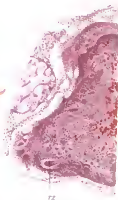


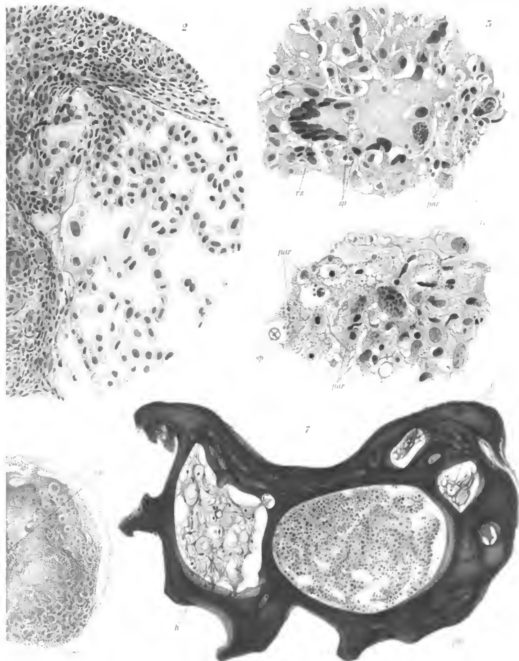
Gustav Fischer

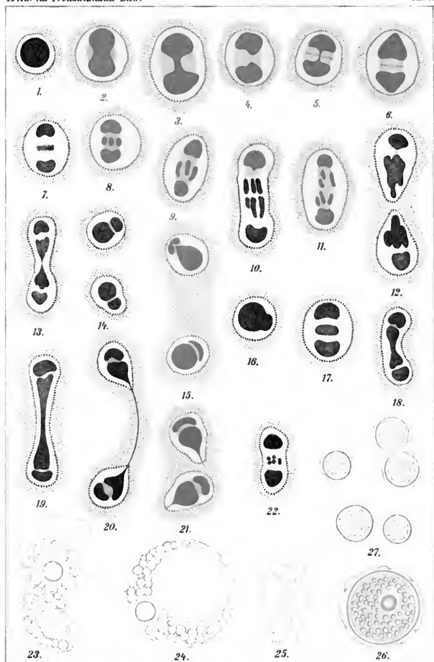

gr
rz




kh
hy
dr


rz


2
5
rz
sp
par
6
par
sp
par
7
h



Autor del. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lithographie v. E. Schmal, Jena.



Fig. 1.

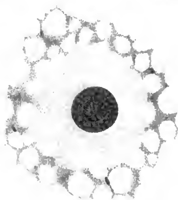


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.

Gustav Fischer.

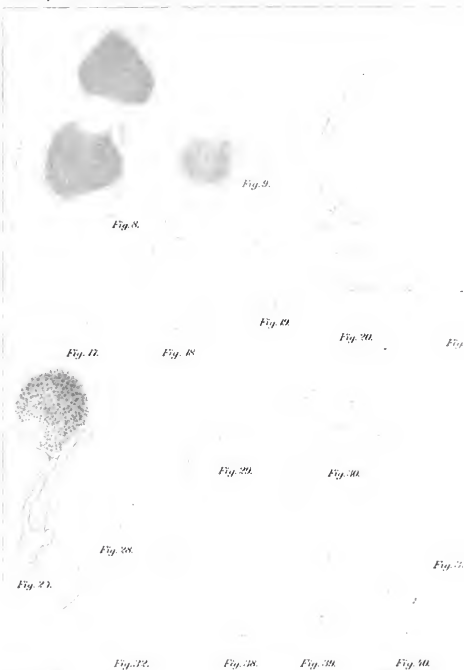

Fig. 8.
Fig. 9.
Fig. 17.
Fig. 18.
Fig. 19.
Fig. 20.
Fig. 28.
Fig. 29.
Fig. 30.
Fig. 32.
Fig. 38.
Fig. 39.
Fig. 40.

Fig. 11.

Fig. 13.

Fig. 10.



Fig. 14.

Fig. 22.

Fig. 12.

Fig. 15.

Fig. 16.

21

Fig. 23.

Fig. 25.

Fig. 24.

Fig. 26.

Fig. 35.

Fig. 33.

Fig. 34.

Fig. 36.

Fig. 37.

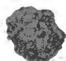
Fig. 41.

Fig. 42.

Fig. 43.

Fischer.

1



2.



3



7



8.



9.



18



13

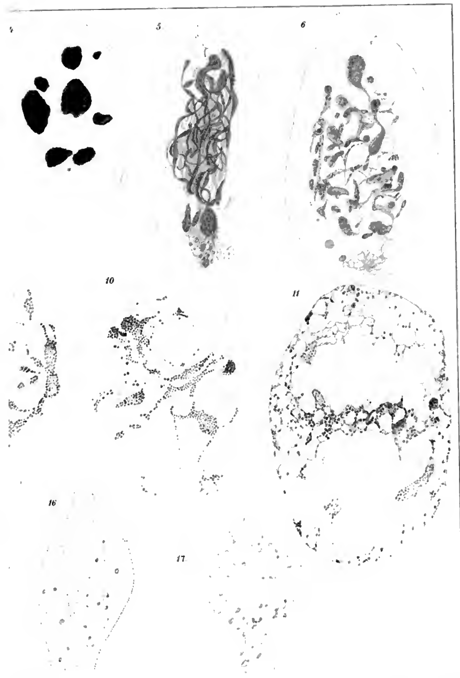
15

12

14

Gonder gez.

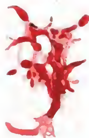
Verl. v Gustav F


5
6
10
11
16
17

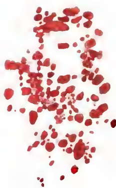
19.



20.



21.



25.



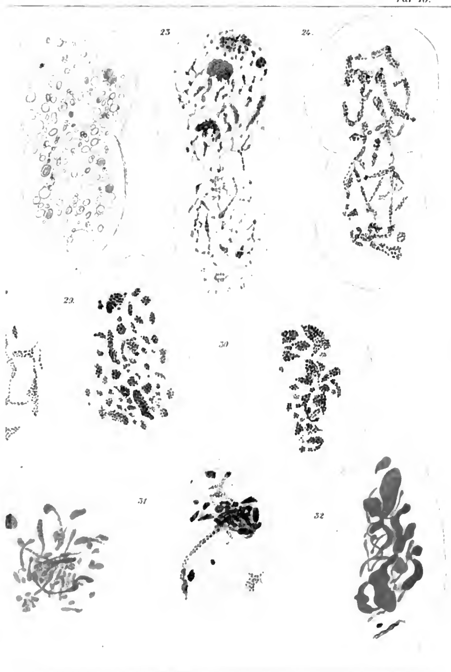
26.



27.

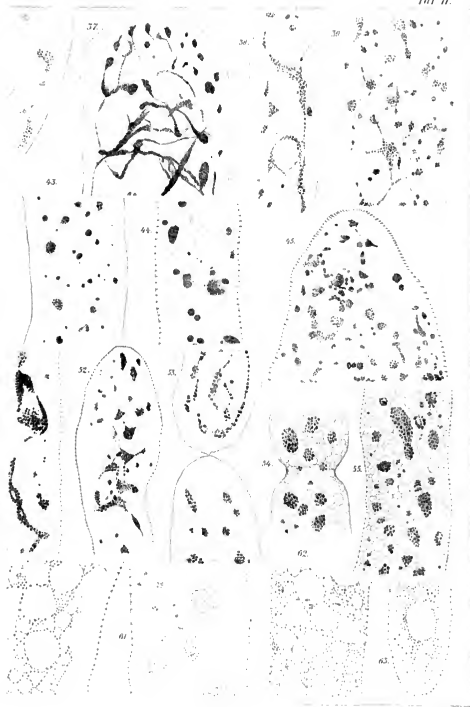





23
24
29
30
31
32



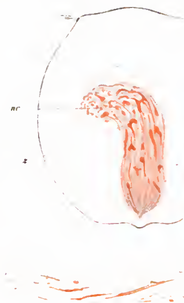
Verl. v. Gustav Fi...

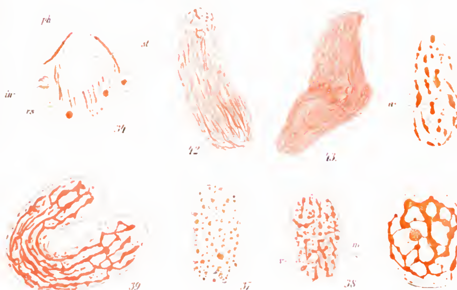

37.
38.
39.
43.
44.
45.
52.
53.
54.
55.
61.
62.
63.

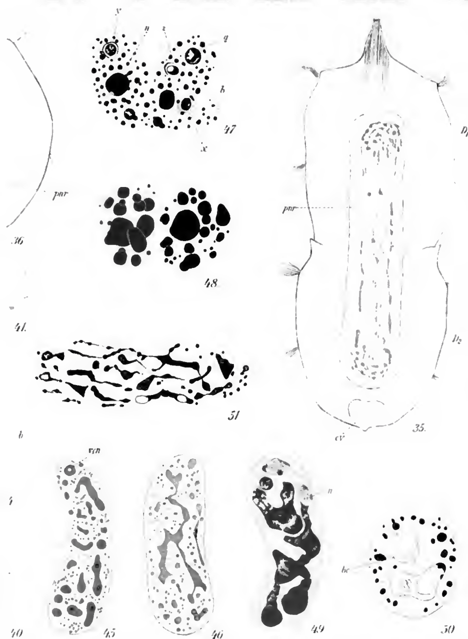



ph
hd
rs
32
ph
hp
bm
st
5.
mn
phf
22
mf
st
cmt
rs
dph
mf
pnr
kd
plc
6
7
pnr
plc
21
20
18.
8
mb
mf
28
25.
24
m
11.
23
29
30
31.
26
27

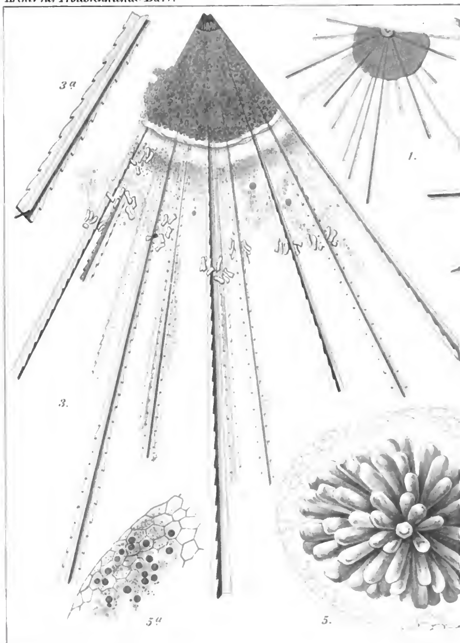
md
st
ph
mf
pr
mn
phf
rs
m
cv₂
kd
33
cv₁





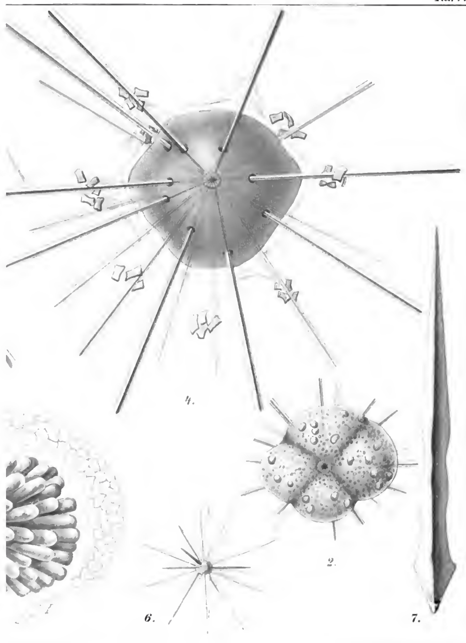


v. Fischer



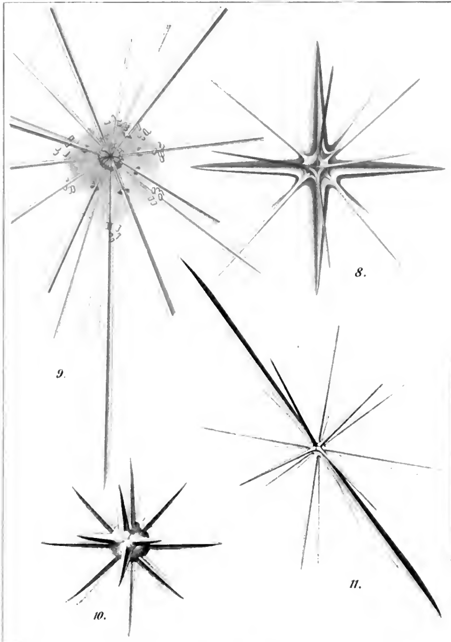
A. [illegible] gez.

Verlag von Gust



v Fischer in Jena.

Lithographie v E.Schaal, Jena



A. Popofsky gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lithographie v. E. Schaal Jena.


Princeton University Library
32101 074861350

